FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1962

THÈSE

N° 459

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Jean-Claude SALOMON

né le 2 octobre 1932 à Paris 13°

Interne des Hôpitaux de Paris .

Présentée et soutenue publiquement le :

CONTRIBUTION A LA CONNAISSANCE MORPHOLOGIQUE DU PROCESSUS CIRRHOGENE ET CANCERIGENE

Etude des Modifications Ultrastructurales
du Foie de Rat Induites par la Thioacétamide .

Président : M.R. FAUVERT, Professeur.

EDITIONS A. G. E. M. P. — 8, RUE DANTE · PARIS-V^e

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1962

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Jean-Claude SALOMON

né le 2 octobre 1932 à Paris 13°

Interne des Hôpitaux de Paris

Présentée et soutenue publiquement le :

BIBLIOTHÈQUE MÉDICALE LIBRE

CONTRIBUTION A LA CONNAISSANCE MORPHOLOGIQUE DU PROCESSUS CIRRHOGENE ET CANCERIGENE

Etude des Modifications Ultrastructurales du Foie de Rat Induites par la Thioacétamide .

Président : M.R. FAUVERT, Professeur.

EDITIONS A. G. E. M. P. — 8, RUE DANTE · PARIS-Ve

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

1-2-1962

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Champy (C.), Debré (R.), Fey (B.), Gastinel (P.), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Olivier (E.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D), Quénu (J.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.).

DOYEN . . . . . Léon BINET.
Membre de l'Institut

1er ASSESSEUR . . . . . Jean VERNE
2e ASSESSEUR . . . . . Gaston CORDIER

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.) / SCHAPIRA (G.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)	N...
Histologie	VERNE (J.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (P.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	PIEDELIÈVRE (R.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	GALLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale	HUGUIER (J.)
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	MILLIEZ (P.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	BOUDIN (G.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
Physiologie	BINET (L.) / BARGETON (D.)
Physiologie et pathologie obstétricale	LEPAGE (F.)
Physique médicale	DOGNON (A.) / DJOURNO (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	N...
Thérapeutique	CONTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Biochimie médicale	DESGREZ (P.) / POLONOVSKI (J.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Hygiène et médecine préventive	DEPARIS (M.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
Pharmacologie	LÉVY (Mlle J.)
Physiologie	PARROT (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)	MOUQUIN (M.)
Cliniques chirurgicales — Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
Cochin	LEGER (L.)
Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
Pitié	CORDIER (G.)
Saint-Antoine	GOSSET (J.)
Salpêtrière	SICARD (A.)
Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants Malades)	FÈVRE (M.)
Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice (Cochin)	MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	GAUDART d'ALLAINES (F. de)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)	MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)	LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)	FUNCK-BRENTANO (P.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)	DEGOS (R.)
Clinique des maladies des Enfants (Enfants-Malades)	CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J.)
Cinique des maladies métaboliques (Necker)	HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales — Boucicaut	LENÈGRE (J.)
Broussais	SOULIÉ (P.)
Cochin	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Cochin	BROUET (G.)
Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
Lariboisière	SÈZE (S. de)
Pitié	DREYFUS (G.)
Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)	DEBRAY (C.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	GENNES (L. de)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales — Baudelocque	LACOMME (M.)
Foch (Suresnes)	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	RENARD (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	LELONG (M.)
Clinique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Pitié)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgixale (Vaugirard)	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique	GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique	PADOVANI (P.)
Séméiologie médicale	DOMART (A.)
Séméiologie et clinique chirurgicales	POILLEUX (F.)
Clinique urologique (Necker)	COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	TURPIN (R.)

b) Professeurs à titre personnel :

Médecine	BOUR (H.)
	LHERMITTE (F.)
	PEQUIGNOT (H.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGRÉGÉS ET MAITRES DE CONFÉRENCES - AGRÉGÉS

	MM.
Anatomie	CABROL (C.) COUINAUD (C.) GILLOT (C.) OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.) pr. s. ch. ABELANET (R.) BUSSER (F.) CHOMETTE (G.) GOUYGOU (Ch.), m. conf. NEZELOFF (Ch.) ORCEL (L.) PAILLAS (J.)
Anesthésiologie	KERN (E.) VOURC'H (G.)
Bactériologie	BARBIER (P.) CHRISTOL (D.) LE MINOR (L.) TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	BAILLIEU Et. m. conf. BOURILLON (R.) CARTIER (P.) DREYFUS (J.-Cl.) GONNARD (P.) KRUH (J.) JEROME (H.)
Biologie appliquée à l'Education Physique et aux Sports	PLAS (F.)
Carcinologie	BOIRON (M.) DENOIX (P.) MATHE (G.) SELIGMANN (M.)
Dermato-Syphiligraphie	CIVATTE (J.) DUPERRAT (B.)
Electro-Radiologie	LEDOUX-LEBARD (G.)
Hématologie	BESSIS (M.) BILSKI-PASQUIER (G.) DAUSSET (J.) DUHAMEL (G.)
Histologie	COUJARD (R.), pr. s. ch. MAROIS (M.) RACADOT (J.)
Hydrologie	BESANÇON (F.) CORNET (A.)
Hygiène	BOYER (J.) pr. s. ch. BLANCHER (G.) CORRE-HURST (Mme L.) SAPIN-JALOUSTRE (H.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.) DUPONT (V.)
Médecine légale	DEROBERT (L.), pr. s. ch. FOURNIER (E.) GUENIOT (M.) HADENGUE (A.)
Médecine du travail	ALBAHARY (C.)
Neuro-chirurgie	PERTUISET (B.)
Obstétrique	GRANJON (A.) NERVET (E.) LE LORIER (G.) LEVY (J.) MORIN (P.) MUSSET (R.) ROBEY (M.) SENEZE (J.) SUREAU (C.) THOYER-ROZAT (J.)
Ophtalmologie	BRÉGEAT (P.) DUBOIS (A.) SARAUX (H.)
Orthopédie	JUDET (R.) MEARY (R.) POSTEL (M.) RAMADIER (J.)
Oto-rhino-Laryngologie	DEBAIN (J.) PIALOUX (P.)
Parasitologie	GOLVAN (Y.) LAPIERRE (J.)
Pathologie chirurgicale	BARCAT (J.) BINET (J.-P.) CAUCHOIX (J.) CERBONNET (G.) CHATELIN (C.-L.) DUBOST (Ch.) DUBOST (Cl.) FAUREL (J.) FLABEAU (F.) GARBAY (M.) GARNIER (H.) (Cl. de) GAUDART-d'ALLAINES GERMAIN (A.) LATASTE (J.) LEVEQUE (B.) LOYGUE (J.) MERCADIER (M.) NATALI (J.) PELLERIN (D.) PERROTIN (J.) ROBERT (H.) THOMERET (G.)
Pathologie exotique	SCHNEIDER (J.)
Pathologie expérimentale	BENHAMOU (J.-P.) BERTHAUX (P.) BOIVIN (P.) CROSNIER (J.) HARTMANN (L.) LŒPER (J.) MAURICE (J.) MIKOL (Cl.) RICHET (G.)
Pathologie médicale	AUSSANNAIRE (M.) BOUVIER (J.) BOUVRAIN (Y.) BRICAIRE (H.) BRISSAUD (H.) BROCARD (H.) BUGE (A.) CATINAT (J.) CHRÉTIEN (J.) COBLENTZ (B.) CONTAMIN (F.) COURY (C.) ÉTIENNE (J.-P.) FREZAL (J.) FRITEL (D.) HENNEQUET (A.) HIMBERT (J.) HOUSSET (E.) LAROCHE (Cl.) LESOBRE (R.) MACREZ (C.) MOREAU (L.) NICK (J.) ROYER (P.) TOURNEUR (R.) WOLFROMM (R.)
Pédiatrie-Puériculture	JOSEPH (R.) LAFOURCADE (J.) LEPERCQ (G.) MANDE (R.) MOZZICONACCI (P.) POLONOVSKI (C.) ROSSIER (A.) VIALATTE (J.)

	MM.
Pharmacologie	BOISSIER (J.) LECHAT (P.)
Physiologie	BARRES (G.) DEJOURS (P.) DURAND (J.) GIRARD m. conf. HUGELIN (A.) SCHERRER (J.)
Physique médicale	CHANTEUR (J.) COUCEROT (L.), m. conf. pr. s. ch. GREMY (F.) m. conf. MILHAUD (G.) PELLERIN (P.) ROUCAYROL (J.-Cl) TUBIANA (M.) m. conf.
Pneumo phtisiologie	KREIS (B.) MEYER (A.) RENAULT (P.)

	MM.
Psychiatrie	MICHOT (P.)
Psychiatrie infantile	DENIKER (P.) DUCHE (D.) FLAVIGNY (H.) LAPRESLE (J.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)
Stomatologie	CERNEA (P.) CHAPUT (Mme A.) m. c. agr. GRELLET (M.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.) LAMOTTE (M.) MARCHE (J.)
Urologie	AUVERT (J.) MOULONGUET (A.) QUENU (L.)

III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent.

	MM.
Anatomie	DEBEYRE (J.)
Clinique chirurgicale	ABOULKER (P.) ARFLINK (A.), pr. s. ch. VERNE (J.-M.)
Clinique médicale	PERRAULT (M.) RAMBERT (P.) THIEFFRY (S.)
Clinique obstétricale	GRASSET (J.) MAYER (M.)

	MM.
Clinique ophtalmologique	DESVIGNES (P.) OFFRET (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique	MADURO (R.)
Clinique pédiatrique et puériculture	LAPLANE (R.)
Clinique psychiatrique	BARUK (H.)
Clinique urologique	KUSS (R.)

IV. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie . . . . . HAUDUROY (P.) Pr. s. ch.

Pathologie chirurgicale . . . . . RUDLER (J.) Pr. s. ch.

V. - CHARGÉS DE COURS D'HYGIÈNE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE

BOLTANSKI (E.)
LAUNAY (C.)

Secrétaire général de la Faculté . . . . . M. LENA (J.)

Secrétaire principal . . . . . Mlle CHAINTREUIL (G.)

Conservateur en Chef de la Bibliothèque .
Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine . . . . . M. le Docteur HAHN (A.)

Conservateur . . . . . Mlle DUMAITRE (P.)

Bibliothécaires . . . . . Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles LAURENT (H.), LE NOIR (G.), QUIÉVREUX (E.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur René FAUVERT
Médecin de l'Hôpital Beaujon

qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre Thèse. Son accueil bienveillant, ses critiques précises et encourageantes nous incitent à voir en lui un Maître vers lequel dans l'avenir, nous n'hésiterons jamais à demander conseil et appui dans nos travaux.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538114_0018

A nos Maîtres dans les Hôpitaux

EXTERNAT

1952	Monsieur le Professeur E. BERNARD
	Monsieur le Docteur M. THALHEIMER
1953	Monsieur le Professeur G. BOUDIN
	Monsieur le Professeur Agrégé B. DUPERRAT
1954	Monsieur le Professeur Agrégé M. CACHIN
	Monsieur le Professeur J. MARIE
1955	Monsieur le Professeur L. de GENNES
	Monsieur le Professeur S. de SEZE

INTERNAT

1958	Monsieur le Professeur G. BOUDIN
	Monsieur le Docteur J. SALLET
1959	Monsieur le Docteur J. BOUSSER
	Monsieur le Professeur Agrégé M. CACHIN
1960	Monsieur le Professeur L. de GENNES
	Monsieur le Professeur J. CAROLI
1961	Monsieur le Docteur P. PORCHER
	Monsieur le Professeur F. SIGUIER

A tous nos Maîtres dans les Hôpitaux

Messieurs les Professeurs Agrégés

H. BRICAIRE, D. CHRISTOL, B. KREIS, H. ROBERT, A. RYCKWAERT, R. TOURNEUR.

Messieurs les Docteurs

J. BARBIZET, C. BETOURNÉ, A. PARAF, Médecins des Hôpitaux.

Messieurs les Docteurs

J. CHALUT, R. LEVY, B. PEPIN, G. PEQUIGNOT, G. SEE.

A Monsieur le Professeur P. GRABAR,
Directeur de l'Institut de Recherches
sur le Cancer du Centre National de la
Recherche Scientifique.
Villejuif - Seine.

A Monsieur le Docteur W. BERNHARD
Directeur de Recherche au Centre National
de la Recherche Scientifique.
Chef du Laboratoire de Microscopie
Electronique de l'Institut de
Recherche sur le Cancer.

Voici environ un an et demi que ce travail est commençé. J'étais interne à l'hôpital Saint Antoine chez Monsieur CAROLI et depuis un an déjà, je travaillais au Laboratoire de Microscopie Electronique sous la direction de Monsieur BERNHARD.

L'un et l'autre me proposèrent ce sujet de Thèse. Au cours de son exécution, j'ai eu chaque fois que cela était nécessaire, c'est-à-dire souvent, des entretiens très libres avec mes deux Maîtres. Le ton familier de leurs conseils, leur gentillesse attentive me font croire qu'ils m'honorent d'un peu d'amitié.

C'est pour cette amitié autant que pour la valeur très supérieure de leur soutien que je leur suis reconnaissant. Je leur demande de croire à la sincérité du dévouement profond de leur élève.

Aussi bien dans le Service à Saint Antoine qu'à Villejuif, j'ai eu la chance de travailler dans des conditions d'amitié excellente ; Victor SCHWARTZMANN étudiait l'enzymologie hépatique au cours de l'administration du toxique et avait bien avant moi une large expérience dont il m'a fait profiter. Je l'en remercie ainsi que sa collaboratrice Nicole BERTHAUX qui a surveillé avec minutie le déroulement de l'intoxication.

Jean ANDRE et Anne-Marie JEZEQUEL sont des électroniciens chevronnés auprès desquels j'ai perfectionné mon bagage technique qui en avait grand besoin ; ils ont aussi une connaissance parfaite de l'ultrastructure de l'hépatocyte, et à ce titre, je les ai bien souvent consultés.

Roland COUSIN fut mon conseiller auprès des microscopes et je sais qu'un néophyte est un individu dangereux pour ces engins dont on ne peut pas dire qu'ils sont simples ; je ne crois pas qu'il m'en veuille pour les heures qu'il a passées à réparer mes fausses manoeuvres.

Madame Jeannette BURGLEN m'a aidé par la préparation technique des coupes histologiques. Ils ont droit tous deux à ma gratitude.

Enfin, nous devons signaler que sans l'appui financier de la Mutuelle Générale de l'Educations Nationale, nous n'aurions pas pu réaliser matériellement ce travail.

Il est d'usage dans les premières pages d'une Thèse de dédier son effort à sa famille et à ses proches. Aujourd'hui donc, je me conformerai avec élan à cette tradition ; une fois n'est pas coutume.

A ma Femme d'abord, pour lui dire le prix immense que j'ai attaché à sa collaboration ; je ne crois pas qu'il y ait un moment de cette Thèse pour lequel elle n'ait apporté son propre effort. Je ne crois pas qu'il existe de joie comparable à celle d'avoir même dans son travail, le présence d'une compagne intelligente et précise. Ce sont là les seules qualités que je sois autorisé à évoquer içi.

A mes Parents, je tiens non pas à redire un amour filial qu'ils connaissent, mais surtout à faire savoir la nature de l'estime que je leur porte. Celle d'un fils qui depuis l'âge de raison s'est senti à la fois libre et très entouré. Leur sagesse et l'habileté avec laquelle ils paratageaient en les modérant mes enthousiasmes, furent sans prix.

Je dédie enfin cette Thèse à tous les miens, et à mes amis : les Docteurs F. BORREY, C. CHOUARD, J. GRELLET, G. LAMBERT, Y. RAMEAUX, R. RAPPAPORT, et R. SLIOSBERG.

S O M M A I R E

-o-o-o-

	Pages
INTRODUCTION	1
MATERIEL D'ETUDE ET TECHNIQUE	6
ASPECT MORPHOCYTOLOGIQUE DU FOIE NORMAL	11
MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES AU 7EME JOUR D'INTOXICATION	18
MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES AU 15 EME JOUR D'INTOXICATION	22
MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES AUX 30 ET 42EME JOURS D'INTOXICATION	28
MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES AUX 60 ET 80EME JOURS D'INTOXICATION	32
MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES A LA FIN DES 4EME ET 5EME MOIS D'INTOXICATION	35
MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES APRES UN AN D'INTOXICATION	39
DISCUSSION GENERALE	43
RESUME ET CONCLUSIOHN	55
BIBLIOGRAPHIE	57

INTRODUCTION

Le but de la présente étude fut la réalisation expérimentale chez le rat blanc de lésions hépatiques ; cirrhose et cancer, grâce à un composé chimique, la Thioacétamide. Nous avons suivi le déroulement des phénomènes dans le temps, à l'échelle cellulaire à l'aide du microscope électronique, dans l'espoir de déceler les modifications ultrastructurales successives.

La carcinogénèse chimique expérimentale

Nous serons très brefs sur les différentes étapes de la connaissance des méthodes chimiques de production expérimentale du cancer.

Les premiers essais couronnés de succès de Yamagiwa et Itchikawa (1918) permirent de provoquer des tumeurs cutanées chez le lapin par badigeonnage au goudron : confirmation expérimentale de certains cancers professionnels.

L'induction de tumeurs hépatiques fût réalisée par Schmidt (1924) avec du rouge soudan chez la souris albinos puis par Sasaki et Hoshida (1935) qui utilisaient le O - aminoazotoluène chez le rat blanc, ouvrant la série d'expériences sur les colorants azoïques qui ont depuis été largement exploités pour leur pouvoir cancérigène.

En 1936, Kinosita découvrit l'efficacité du p- dimethylaminobenzène ou jaune de beurre comme facteur de cancérisation hépatique chez le rat.

En 1953, Haddow démontre l'action plus marquée du 3' - Methyl - 4 - dimethylaminoazobenzène et du 4' - fluoro - 4 - dimethylaminoazobenzène.

La liste des colorants cancérigènes ne cesse de s'allonger et il serait hors de propos de faire içi une étude comparative chimique de ces différentes substances.

Chacune des cancérisations réalisée confirmait la valeur expérimentale de la méthode chimique, en provoquant avec une régularité et une fréquence connues, variables avec la substance inductrice, le mode d'administration, l'animal d'expérience et le régime administré, des cancers hépatiques histologiquement prouvés.

L'extension de cette technique permit de trouver dans d'autres familles chimiques de nombreux composés cancérigènes, dont la Thioacétamide.

Les types tumoraux furent considérés en fonction des aspects anatomopathologiques constatés et nous citons içi la classification la plus généralement adoptée :

1 - Carcinome trabéculaire ou hépatocellulaire
2 - Adenocarcinome ou cholangiocarcinome
3 - Carcinome anaplastique ou indifférentié
4 - Sarcome

On sait par ailleurs que les tumeurs provoquées par les cancérigènes chimiques évoluent suivant deux modes selon que le toxique est administré à doses élevées chez des animaux soumis à un régime de carence protéique, ou au contraire à doses faibles associées à un régime équilibré et riche.

Dans le premier cas des tumeurs hépatiques multiples se développent simultanément en plusieurs points de l'organe, dans le second cas, on constate fréquemment l'installation d'un premier stade de cirrhose et ce n'est que secondairement qu'apparaissent les foyers malins, sur le foie déjà profondément remanié.

Nous avons choisi cette deuxième méthode d'induction plus proche, nous semble-t-il, des cancers primitifs du foie observés chez le cirrhotique. En effet, on connaît maintenant la fréquence croissante de ce type de cancer humain qu'on désigne habituellement sous le nom d'"adenocancer avec cirrhose".

Nous avons pensé que l'utilisation du microscope électronique permet une approche meilleure des processus cancérigène et cirrhogène. Cette technique favorise la découverte des lésions initiales qui sont, nous le verrons, extrêmement précoces, et à un stade où l'histologie classique apporte peu de données structurales, nous avons observé des remaniements ultrastructuraux profonds.

En comparant nos résultats avec ceux obtenus par d'autres auteurs, nous essaierons de distinguer parmi les modifications produites, celles qui reviennent à la cirrhogénèse et à la carcinogénèse au niveau de la cellule, c'est-à-dire l'ensemble des phénomènes communs à différentes substances, de celles qui appartiennent en propre à la substance que nous avons utilisée.

Les effets hépatiques de la Thioacétamide

La Thioacétamide $CH_3\ CS\ NH_2$ a d'abord été étudiée par Fitzhugh et Nelson en 1948, puis par Gupta (1955-1956) qui donnèrent une description détaillée des effets de la substance au cours d'intoxications aigües et chroniques. Ces auteurs, à l'aide de techniques histologiques et histochimiques, constataient :

1° Au cours de l'intoxication aigüe : par injection parentérale d'une dose unique et massive :

- en 24 heures, une nécrose diffuse du parenchyme suivie d'une régénération rapide ;
- à la 3ème heure, dilatation des sinusoïdes hépatiques ;
- à la 6ème heure, gonflement des cellules centro-lobulaires
  disparition du glycogène
  disparition de la basophilie du cytoplasme
- à la 9ème heure, Vacuolisation extensive du cytoplasme avec accumulation de lipides et infiltrations mononucléaires
- à la 12ème heure, chaque lobule est divisé en 3 zones concentriques :
  zone de nécrose centro-lobulaire
  zone de cellules dépourvues de glycogène avec augmentation de taille des noyaux
  zone juxta-portale dépourvue d'altération

Cette distribution des lésions est la règle dans les hépatites toxiques.

- à la 30ème heure, nécrose cellulaire extensive ;
- après 48 heures, multiplication des mitoses au niveau des mononucléaires.

L'étude biochimique simultanée (Gallagher et Coll. 1956) montrait :

- une inhibition du métabolisme respiratoire hépatique ;
- la pénétration croissante de calcium dans la cellule à partir de la 8ème heure ;
- la synthèse élevée d'acide ribonucléique et de phospholipides, par mesure d'incorporation du Phosphore radioactif P_{32} ;
- le rôle protecteur des antihistaminiques.

2° Au cours de l'intoxication chronique :

La mortalité élevée est quatre fois plus forte chez les mâles que chez les femelles.

Macroscopiquement : dès les premiers jours, le foie est plus pâle, puis apparaissent de fines granulations d'abord à droite, bientôt étendues à tout l'organe. Enfin, après 14 - 15 semaines, le foie prend un aspect franchement nodulaire jaune rosé.

Au microscope optique :

- Après quelques jours, les cellules centro-lobulaires se nécrosent. Ce processus nécrotique s'étend à tout le lobule mais n'atteint pas toutes les cellules.

Chez les survivants, le glycogène disparaît rapidement ; il existe une vacuolisation lipidique alors que la basophilie cytoplasmique diminue. Les cellules augmentent de taille ainsi que leurs noyaux, mais surtout un nucléole énorme et très basophile apparaît ; l'ensemble réalise l'aspect de "cellule étoilée" (starry cell).

- Après 2 ou 3 semaines :
  Le noyau a doublé de taille ;
  Le cytoplasme très pâle est faiblement eosinophile ;
  Les limites cellulaires sont floues ;
  La prolifération ductulaire commence.
  - Après cinq semaines :
    Les limites du noyau sont floues
    Les nucléoles diminuent de taille
    Le cytoplasme devient PAS positif.
- Après 14 - 15 semaines, apparaissent des nodules de régénération qui augmentent progressivement de volume par coalescence.
- Au bout de 7 à 8 mois, les cellules des nodules deviennent larges et chargées de glycogène.

En 1957, Kleinfeld et Koulish étudient les variations des taux d'acides ribo et desoxyribonucléiques sous l'effet du toxique.

En 1959, Kleinfeld et von Haam reprennent cette étude en comparant les images nucléaires obtenues à l'aide de la micorscopie photonique et de la microscopie électronique.

Dans notre Thèse, nous expliquerons la technique que nous avons utilisée, puis nous ferons un rappel de la structure de la cellule hépatique du rat adulte normal qui servira de base de comparaison pour apprécier les modifications analysées. Enfin, nous essaierons au cours de la discussion, de rassembler nos résultats de façon plus synthétique pour pouvoir les comparer avec les informations puisées dans la littérature.

MATERIEL D'ETUDE ET TECHNIQUE

1° Les Animaux d'Expérience

Nous avons utilisé comme animal d'expérimentation, des rats blancs Wistar de la souche pure fournie par les élevages du CNRS à Gif-sur-Yvette, et élevés à l'animalerie de l'Institut de Recherche sur le Cancer du CNRS, à Villejuif. L'expérimentation in vivo a été menée à bien dans l'animalerie du centre de recherches hépatologiques, Service du Docteur J. Caroli, Hôpital Saint-Antoine.

Nous n'avons choisi que des rats mâles, car ils sont plus sensibles que les femelles au produit toxique. Ces différences de sensibilité sont fréquentes et déjà signalées.

L'intoxication a été commençée dans le courant du troisième ou du quatrième mois d'âge, c'est-à-dire à une période où l'animal est adulte, mais n'a pas terminé sa croissance.

Un lot de 18 rats pris comme témoins et choisis au hasard a été soumis au même régime alimentaire et mis dans les mêmes conditions de vie que les sujets d'expérience.

2° Le Toxique

La Thioacétamide (TAC) PROLABO se présente comme une poudre blanche soluble assez aisément dans l'eau du robinet, à froid, sans précaution particulière.

Elle répond à la formule $CH_3\ CS\ NH_2$

3° Elevage et mode d'intoxication

Les rats ont été placés dans des cages individuelles, ce qui a permis de connaître à tout moment de l'expérimentation :

- leur poids
- la quantité d'aliments consommés
- la dose de toxique ingéré.

a) L'alimentation consistait uniquement en croquettes (Usine d'Alimentation Rationnelle - Villemoisson sur Orge).

b) L'intoxication a donc été réalisée par voie orale, la TAC étant mêlée en solution à l'eau de boisson, et donnée dans des flacons individuels.

Nous avions initialement réalisé une solution à 1/1500, mais du fait de la chaleur les rats absorbaient une quantité importante de liquide, et nous avons craint une surmortalité, ce qui nous a amenés au 15ème jour de l'expérimentation, à passer à une solution au 1/3000.

Tous nos calculs de doses reçues seront donc faits en corrigeant cette différence, et exprimés en volumes de solution au 1/3000, ou en poids brut de TAC.

Cette voie d'administration permet donc une intoxication régulière. Trois fois par semaine, on complétait le contenu des flacons en mesurant les quantités nécessaires à ces compléments.

c) Surveillance des animaux : Outre la surveillance clinique :

- comportement des rats
- aspect du pelage
- diarrhées
- hémorragies

nous avons chaque semaine, pesé les animaux intoxiqués et l'alimentation donnée.

La mortalité a été assez élevée, surtout au cours des 3ème, 4ème et 5ème semaines d'expérience. Mais il ne paraît pas que nous ayons eu des résultats significativement différents de ceux observés par les auteurs qui, avant nous, ont utilisé la TAC chez le rat (Ambrose et Coll. 1949, Rather, 1951, Gupta 1956), non plus qu'il ne semble exister de sensibilité ou de résistance particulière propre à l'une ou l'autre espèce de rat couramment étudiée au laboratoire.

La mort survient après une période de 2 à 5 jours dans un tableau d'anorexie et de diarrhée, avec apparition progressive d'asthénie ; les animaux ont un pelage terne, hérissé ; ils se tiennent recroquevillés au fond de leur cage. Parfois, nous avons observé des hémorragies nasales.

4° Technique

a) Anesthésie

Les animaux anesthésiés par une injection intra péritonéale de nembutal sont laparotomisés et le prélèvement d'organes est donc réalisé sur animal vivant.

Nous avons préféré le Nembutal aux anesthésiques volatils qui sont souvent hépatotoxiques et interfèrent avec les effets propres du produit étudié. Cet usage est d'autant plus nécessaire que l'ultrastructure cellulaire du foie est sujette à des remaniements très rapides.

La mort par décapitation ou par dislocation du rachis cervical, si elle permet d'éviter cet inconvénient, oblige par contre à opérer parfois avec un peu de hâte.

b) Prélèvement

Les prélèvements ont donc été opérés in vivo, après avoir pu observer à loisir l'état des organes en place. Nous avons de préférence pris des fragments de lobe droit, nous référant à l'atteinte prédominante de ce lobe signalée par Gupta. Parfois, nous nous sommes adressés aux lobes droit et gauche.

Dans la majorité des cas, à côté du prélèvement destiné à la microscopie électronique, nous avons, pour une étude comparative, fixé et inclu pour la microscopie photonique, suivant les procédés classiques.

c) Microscopie Electronique

- Fixation à l'acide osmique à 2% 1 heure à 1 h 30'
  tamponné soit selon Palade en tampon veronal
  soit selon Millonig en tampon phosphate + sucrose.
- deshydratation par l'alcool
  soit à la température ambiante
  soit à la chambre froide à 4°
- les inclusions de la période d'essais préliminaire à l'expérimentation proprement dite ont été réalisées dans un mélange de methacrylate de methyle et de butyle (9/1).

N.B. Nous utiliserons indifféremment les termes de microscope optique et de microscope photonique.

- toutes les inclusions faites lors de l'expérimentation elle-même, furent faites dans Epon 812 suivant la méthode de J.H. Luft (1961), avec les proportions suivantes :

Solution A	10
Solution B	5
DMP 30	0,22

Polymérisation 48 heures à 56°.

d) Microscopie Optique

Fixation en liquide de Boin
et en liquide de Serra
Inclusion à la paraffine.

e) Les coupes ultra-fines ont été faites à l'ultramicrotome Servall-Porter Blum, uniquement à l'aide de couteaux de verre préparés suivant la technique mise au point par J. André.

Les coupes furent recueillies régulièrement, d'une part sur treillis de bronze ordinaires recouverts de formwar, d'autre part sur treillis electrolytiques Kodack 300.

f) Coloration

Trois méthodes de coloration ont été utilisées. En effet, la coloration par les métaux lourds s'avère presque indispensable à l'observation des tissus inclus en Epon. Cette matière en effet, si elle permet une étude plus complète, plus fine de l'ultrastructure que le methacrylate, donne en retour un contraste moins net. Ces colorations permettent donc de compenser ce défaut.

1- Coloration à l'acétate d'uranyle en solution aqueuse saturée, 1/2 heure à 1 heure. (Watson 1958).

2 - Coloration à l'acétate basique de Plomb (PROLABO).

Cette coloration donne un excellent contraste, mais elle est de réalisation difficile, car pour diminuer l'abondance des précipitations il est indispensable de travailler à l'abri du gaz carbonique atmosphérique. (Méthode de Dalton et Zeigel, 1960, modifiée).

3 - Coloration au Plomb à pH élevé selon Karnovsky (méthode B). C'est à elle que vont nos préférences actuellement ; le contraste est excellent alors que les précipités de plomb sont rares.

g) Examen au Microscope Electronique

RCA EMU 2E

et Siemens Elmiscope I Tension de 60 Kv

Diaphragmes objectif 30 et 50 microns de diamètre.

h) Coupes semi-fines

Pour chaque bloc étudié, nous avons pratiqué à l'ultramicrotome une coupe de 1/2 à 1 micron d'épaisseur, recueillie sur lame de verre et débarrassée de la matière d'enrobage (Epon) par une solution métallique dans du benzène et de l'alcool méthylique à parties égales (H.O. Mayer et Coll. 1961).

L'observation de ces coupes est possible au microscope photonique en contraste de phase ou après coloration au bleu de toluidine ou au Periodic Acid Schiff - PAS - (méthode de Hotchkiss modifiée).

Ce procédé permet le repérage convenable des fragments de petites tailles utilisés en microscopie electronique et de mieux situer les cellules observées.

i) Les coupes à la paraffine furent colorées à l'hematoxiline éosine, systématiquement et par d'autres procédés quand cela fût nécessaire.

ASPECT MORPHOCYTOLOGIQUE DU FOIE DE RAT NORMAL

Avant d'aborder l'étude des modifications ultrastructurales du foie de rat induites par la Thioacétamide (TAC), nous croyons indispensable de faire un rappel de l'ultrastructure du foie normal de rat adulte Nous avons pour ce faire, utilisé des prélèvements obtenus par les mêmes méthodes parmi les sujets témoins de notre expérimentation.

Nous essaierons de schématiser ces constatations en suivant le plan analytique que nous conserverons pendant toute la partie descriptive de ce mémoire. Au passage nous signalerons les rapports existants entre ces données et ce que la microscopie photonique classique nous permet de connaître de l'histologie hépatique; tant il est vrai qu'une étude au microscope électronique ne peut être menée à bien sans référence constante aux méthodes classiques de l'histologie.

Néanmoins nous ne nous proposons pas de faire une étude cytologique exhaustive du foie ; nous renvoyons le lecteur aux excellentes publications de Fawcett (1955), de Novikoff (1960), et Rouiller et Coll. (1962) et de Mademoiselle A.M. Jézéquel (1962) qui ont plus que nous, l'autorité nécessaire pour un tel travail.

Nous verrons successivement : le cytoplasme et ses organites,
la membrane cellulaire
le noyau,
le sinusoïde hépatique.

I - CYTOPLASME

Le cytoplasme est d'une extraordinaire richesse structurale. Chacune des structures que nous allons décrire est disposée dans l'espace cytoplasmique au sein d'une substance amorphe, ou du moins qui paraît telle avec les techniques actuelles. Cette substance ou HYALOPLASME joue sans doute un grand rôle

physiologique. Il représente la fraction surnageante obtenue par centrifugation différentielle. Sa composition chimique pauvre en grosses molécules explique probablement cet aspect vitreux.

1° Ergastoplasme

L'ergastoplasme est une structure faite de citernes limitées par des membranes simples bordées de granulations sur leur face externe.

Ces citernes communiquent entre elles ; elles sont, dans le foie normal, aplaties et très allongées. A la coupe il n'y a pas d'orientation préférentielle, mais plus souvent des groupements lamellaires de deux ou trois citernes voisines.

L'abondance de l'ergastoplasme subit des variations physiologiques, et traduit les différents stades des fonctions cellulaires. D'une cellule à l'autre il est donc normal de constater des différences. Nous ne décrirons donc dans l'étude ultérieure que les aspects prédominants.

C'est aux travaux d'Oberling et Bernhard qu'on doit de connaître le rapport qui existe entre la basophilie du cytoplasme et la richesse ergastoplasmique. Tous les travaux postérieurs n'ont fait que confirmer cette notion, et l'on peut maintenant assurer qu'une cellule dont le cytoplasme est très basophile a un ergastoplasme développé et inversement.

La signification fonctionnelle de l'ergastoplasme répond à sa structure fine : la membrane des citernes (70 Angströms de large) est bordée, nous l'avons vu, par des grains de 150 Angströms de diamètre dénommés grains de Palade ou RIBOSOMES. Ils sont responsables de la basophilie.

L'étude biochimique après isolement par ultracentrifugation, a montré leur grande richesse en ribonucleoprotéines (RNP particles). Associés aux membranes sur lesquelles ils sont fixés, ils forment la fraction MICROSOME des biochimistes.

On sait le rôle fondamental de l'acide ribonucléique (RNA ou ARN) dans la synthèse protéique. La présence de l'ergastoplasme en est donc la traduction structurale dans les cellules hépatiques. Il est probable que dans les citernes s'accumulent les produits de cette synthèse et que ce système communiquant leur sert de canal transporteur. Cette fonction a été démontrée par Palade et Siekevitz (1961) dans le pancréas. Pour le foie, aucune démonstration n'a encore été produite d'un tel mécanisme. On admet cependant que la présence de citernes dilatées traduit un état de synthèse protéique accrue.

2° Appareil de Golgi

L'appareil de Golgi occupe un espace beaucoup plus réduit que l'ergastoplasme, ce qui explique son inconstance sur les coupes dont l'épaisseur (500-800 Angströms) est très faible par rapport au volume cellulaire. La présence de plusieurs appareils de Golgi sur une même section dans une seule cellule, est donc toujours l'expression d'une hypertrophie Golgienne.

C'est un ensemble de citernes aplaties parallèles, limitées par une membrane simple lisse, c'est-à-dire dépourvue de ribosomes. Ces citernes ou vésicules sont de tailles variables, leurs extrémités souvent dilatées et fragmentées en vésicules contiennent parfois des grains de secrétion peut-être de nature lipidique.

Le rôle de l'appareil de Golgi de l'hépatocyte reste à démontrer, toutefois par analogie avec celui des cellules exocrines du Pancréas, on lui suppose une fonction de secrétion et d'accumulation des produits secrétés.

La situation du Golgi entre le noyau et le canalicule biliaire est la règle.

3° Reticulum endoplasmique

La notion d'un réticulum endoplasmique continu, véritable système circulatoire intra-cellulaire semble actuellement admise par tous. Ce complexe membraneux décrit par Porter et son école est fait d'une multitude de microvésicules à paroi lisse.

Ce réseau de communication est en continuité avec l'espace intermembranaire de la membrane double du noyau. Pour certains ce serait la prolifération de la membrane du noyau qui répondrait du développement à travers tout le cytoplasme, du réticulum endoplasmique. D'autres auteurs font aussi participer la membrane cellulaire à la genèse du réticulum endoplasmique par invagination et fragmentation des portions de cette membrane invaginée. Les images de pinocytose si fréquemment constatées aux pôles biliaires et sanguins de l'hépatocyte, apporte un soutient fondamental à cette hypothèse.

4° Mitochondries

L'ensemble des mitochondries ou chondriome, intervient dans la physiologie cellulaire d'une façon essentielle. L'étude des fractions mitochondriales

obtenues par ultracentrifugation, a permis de localiser dans ces organites la grande majorité des enzymes hépatiques connues.

Arrondies ou allongées (0,5 - 3 microns), les mitochondries des cellules du parenchyme hépatique, comme toutes les mitochondries décrites dans les cellules animales ou végétales, ont une structure comportant un certain nombre d'éléments constants ;

- la membrane externe (35 - 60 Angströms)

- la membrane interne (40 - 70 Angströms)

limitent la chambre externe (35 - 60 Angströms)

l'ensemble formant la membrane mitochondriale (140 - 180 Angströms)

- des crêtes ou cristae : l'espace intra-cristal est limité par deux membranes qui sont des prolongements de la membrane interne. Cet espace intra-cristal est donc en communication avec la chambre externe.

- la chambre interne est tout l'espace compris à l'intérieur de la membrane interne. Normalement les deux chambres externe et interne sont isolées et ne communiquent pas entre elles, ni avec le reste du cytoplasme.

- Occupant toute la chambre interne, la matrice mitochondriale, faite de substance finement granuleuse de densité variable.

- Dans la matrice on voit quelques granules denses (300 Angströms de diamètre) dont la signification demeure inexpliquée.

Chaque mitochondrie forme donc un système clos et paraît fonctionner pour son compte propre.

Signalons l'association fréquente mitochondries-ergastoplasme en unités fonctionnelles décrites par Rouiller et Bernhard.

Dans le foie, les mitochondries sont nombreuses et riches en crêtes.

5° Les Microcorpuscules de Rouiller

Les microcorpuscules ou microbodies sont présents en abondance variable dans le foie. Ce sont des corpuscules caractérisés par :

- leur forme arrondie

- une membrane simple périphérique

- un aspect homogène dense

- la présence inconstante, au milieu du microcorpuscule, d'une zone plus dense arrondie ou étoilée, parfois d'allure pseudo-cristalline, lamellaire ou "core".

Suivant les auteurs, on attribue des fonctions diverses à ces organites. La constatation de formes intermédiaires entre eux et les mitochondries nous porte à les considérer comme des précurseurs possibles des mitochondries selon la théorie de Bernhard et Rouiller.

6° Les Corps denses péribiliaires ou Lysosomes

Nous serons brefs sur leur description. La notion de lysosomes repose sur des recherches biochimiques et histochimiques (De Duve et Novikoff). Les structures correspondantes seront simplement signalées dans notre travail car nous n'avons pas utilisé ces techniques pour une caractérisation formelle.

7° Inclusions cytoplasmiques

Nous ferons souvent état dans cette étude de la présence d'inclusions cytoplasmiques, gouttelettes lipidiques et amas glycogéniques. Dans la cellule normale, de telles inclusions sont fréquentes.

Les gouttelettes lipidiques sont observées sous l'aspect de tâches unies ou noirées, plus ou moins opaques au rayonnement (plus ou moins imprégnées par l'osmium).

Le glycogène apparaît après coloration par les sels de plomb, sous forme de grains très noirs agglomérés en paquets dans des zones dites "zones à glycogène" ; l'abondance de ce corps varie avec l'état fonctionnel des cellules.

8° Membrane cellulaire

La membrane cellulaire ou membrane plasmatique entoure complètement la cellule.

Au niveau du sinusoïde et des canalicules biliaires, elle forme des microvillosités très nombreuses qui augmentent la surface de contact avec ces deux formations et facilitent ainsi les échanges de la cellule.

Ces échanges se font à travers elle ou par pinocytose. Rappelons que la microscopie électronique a permis d'éliminer de façon certaine l'existence de paroi propre aux canalicules biliaires. Toutefois, le long des canalicules les membranes de deux cellules voisines sont liées par les desmosomes qui solidarisent entre elles ces cellules et assurent la fermeture des canalicules sinon leur étanchéité discutée.

II - NOYAU

Les noyaux des hépatocytes sont centro-cellulaires et arrondis. Leur limite est le fait d'une membrane nucléaire double, comparable à une séreuse. Entre ces deux membranes un espace périnucléaire de 120-150 Angströms de large dont nous avons dit qu'il communiquait avec le réticulum endoplasmique.

Cette membrane par ailleurs est interrompue en de nombreux points et délimite des pores arrondis qui mettent en contact direct le nucléoplasme et le cytoplasme. Ces pores jouent un rôle important dans les échanges nucléo-cytoplasmiques.

Sur les coupes perpendiculaires au plan de la membrane nucléaire, ces pores sont visibles sous l'aspect de solution de continuité de la membrane dont le feuillet interne se réfléchit sur le feuillet externe.

Sur les coupes tangentielles au plan de la membrane, ces pores sont vus de face ; ce sont des orifices arrondis.

C'est à proximité des pores que dans l'hépatocyte normal, on constate la présence de ribosomes libres c'est-à-dire non fixés à l'ergastoplasme. Ces ribosomes sont groupés en rosettes ou en amas spiralés. On interprête cette situation juxta-nucléaire comme l'expression morphologique du passage dans le cytoplasme du RNA d'origine nucléaire porteur de l'information génétique.

Le contenu du noyau est fait de deux parties : le nucléole et le nucléoplasme.

Le nucléole très caractéristique est une formation dense de grains de petite taille groupés pour dessiner un peloton : le nucléolonéma. Entre les mailles du peloton, la pars amorpha, plus claire.

Le nucléoplasme occupe le reste du volume nucléaire. Finement granuleux, sa structure est plus dense par zone, surtout à la périphérie du noyau où il se condense en amas de chromatine.

III - SINUSOIDE HEPATIQUE

Les sinusoïdes hépatiques sont limités par la membrane des hépatocytes qui les bordent.

Cette membrane est tapissée par les prolongements cytoplasmiques très minces des cellules de l'endothélium. Ces deux structures limitent l'espace de Disse.

Les cellules endothéliales ne séparent pas complètement les cellules parenchymateuses de la lumière des sinusoïdes. En certains points, la membrane des cellules du parenchyme est au contact direct du sinusoïde, c'est-à-dire du sang circulant et l'espace de Disse est en communication avec la lumière du vaisseau.

C'est dans l'espace de Disse que l'on voit normalement les faisceaux de fibres collagènes reconnaissables à leur aspect périodique.

Nous ne ferons pas içi une description détaillée des cellules endothéliales et des cellules de Küpffer, nous nous bornerons dans la suite de l'exposé, à signaler les quelques altérations morphologiques observées, qui les intéressent.

MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES AU SEPTIEME JOUR D'INTOXICATION

L'étude des effets de l'intoxication après sept jours d'administration du produit a été pratiquée chez trois rats. Elle nous permet de voit les effets précoces de la TAC à une période où il y a cliniquement peu ou pas encore de troubles.

L'examen anatomique du foie ne montre aucune lésion macroscopique ; taille normale, aspect et surface de couleurs normales.

Au microscope optique, ce qui domine est l'apparition dans des noyaux de grande taille de nucléoles extrêmement volumineux et denses. L'ultrastructure déjà très bouleversée.

I - CYTOPLASME

1° Ergastoplasme

Il y a par rapport à l'hépatocyte normal une abondance moindre de reticulum granuleux, néanmoins dans certaines cellules et par zones, persistent des lamelles ergastoplasmiques d'aspect normal, sans image de secrétion c'est-à-dire sans gonflement des citernes ergastoplasmiques ; la disposition régulière des ribosomes de taille normale est habituelle.

A côté de cette diminution de l'ergastoplasme qui va de pair avec la rareté des zones de basophilie cytoplasmique dense en microscopie optique, on observe une augmentation très notable du nombre de ribosomes libres, groupés en rosettes ou en spirales. Ces images se voient surtout dans le cytoplasme périnucléaire.

Nous reviendrons ultérieurement sur l'importance que nous accordons à une telle disposition.

Par ailleurs, ces ribosomes libres sont disséminés en moins grand nombre dans le cytoplasme. Enfin, plus rarement, à distance du noyau on observe des amas de ribosomes qui ont parfois une structure organisée pseudo-ergastoplasmique, c'est-à-dire alignés suivant des directions parallèles, mais sans profil membraneux.

Il nous paraît impossible d'interprêter cette dernière image comme celle d'une coupe tangentielle fortuite d'un groupe ergastoplasmique.

2° Appareil de Golgi

A cette période de l'intoxication on voit, comme dans la cellule normale, quelques profils Golgiens. Leur morphologie n'évoque pas une activité accrue. La disposition des citernes Golgiennes lisses est régulière.

3° Reticulum lisse, Vacuoles et Inclusions

- Il y a peu de vesicules lisses

- Peu de vacuoles, certaines contiennent une substance faiblement osmiophile, d'autres paraissent vides ou partiellement remplies d'une substance noirée de nature sans doute lipidique.

- Les colorations au plomb intensifient vigoureusement le contraste du glycogène granulaire très abondant par plages dans le cytoplasme, chez nos animaux sacrifiés en période d'activité digestive.

4° Les Corps denses péribiliaires ou Lysosomes sont peu nombreux.

5° Mitochondries et Microcorpuscules

La morphologie mitochondriale, si l'on considère ces organites pris individuellement, est peu modifiée, réserve faite toutefois de la coloration plus intense qu'il n'est habituel, de la matrice mitochondriale, même sur les coupes les plus fines, ce qui permet d'affirmer cette modification.

La fréquence relative des mitochondries sphériques et allongées est normale.

Leurs diamètres : mitochondries rondes à la coupe (c'est-à-dire sphériques) sont compris entre 0,6 et 1,2 microns. Les mitochondries allongées ou filamenteuses (chondriocontes des anciens auteurs) ont 0,6 - 1 micron de large et 1,5 - 3 microns de long.

Le nombre de crètes, leur longueur et leur disposition n'appellent aucun commentaire.

L'ensemble du chondriome occupe une place normale dans le cytoplasme des hépatocytes.

Par contre, les microcorpuscules de Rouiller et Bernhard sont nombreux, très denses et leur "core" extrêmement osmiophile.

6° La membrane cellulaire

Les rapports intercellulaires ne sont pas modifiés. Les limites intercellulaires sont soulignées par les membranes de deux cellules adjacentes dont les rapports sont normaux ; la sinuosité habituelle de ces limites est respectée, de même que la largeur des espaces intercellulaires.

Les desmosomes sont présents à proximité immédiate des canalicules biliaires et des entonnoirs des espaces de Disse.

- Les canalicules biliaires ne sont pas dilatés.

- Les villosités de la membrane aussi bien dans la lumière des canalicules qu'aux pôles sanguins des cellules dans la lumière des espaces de Disse, sont normales en abondance, en taille et en forme.

II - NOYAU

Les noyaux cellulaires ont subi dès le septième jour d'intoxication de grosses modifications : taille augmentée - présence de nucléoles géants pathologiques. Ceci est un fait d'observation décrit en microscopie optique. L'étude ultrastructurale apporte à ce propos une confirmation formelle. Ces phénomènes seront retrouvés et discutés tout au long de notre exposé.

- Augmentation de volume du noyau

Diamètre 8 - 12 microns (normal 4 - 9 microns)

- Augmentation de volume du nucléole

Diamètre 4 - 6 microns (normal 1,5 - 2,5 microns)

est la règle.

Toutefois, il convient de préciser que la présence d'un nucléole volumineux n'intéresse pas tous les noyaux.

- La chromatine nucléaire a perdu sa condensation caractéristique surtout à la périphérie des noyaux.

- Le nucléoplasme apparaît finement granuleux et régulièrement disposé.

- Il faut déjà noter la présence dans le Nucléoplasme de grains osmiophiles groupés en amas de taille et de disposition non systématiques.

Ces nucléoles monstrueux sont grossièrement sphériques, occupent souvent dans le noyau une situation latérale ; ils sont proches et parfois au contact de la membrane nucléaire.

- la pars amorpha occupe peu de place par rapport à un

- nucléolonéma pelotonné, fait de grains de petite taille, avec des

zones de densité optique beaucoup plus marquée.

- La membrane nucléaire est parfois régulière, plus souvent un peu ondulée. Les deux feuillets bien visibles dès que le grossissement est suffisant, laissent un espace intermembranaire de largeur normale.

Ce qui frappe est l'abondance déjà anormale des pores nucléaires visibles sur les coupes perpendiculaires, comme des solutions de continuité dans cette membrane ; mais surtout l'extrême abondance des pores vus de face même dans des coupes interessant le noyau à distance de son pôle.

A proximité immédiate de la membrane, on observe des ribosomes libres en amas spiralés, ceci suggère un aspect fonctionnel particulier et l'importance des échanges nucléo-cytoplasmiques. Nous y reviendrons.

III - SINUSOIDE

Nous serons beaucoup plus brefs sur la morphologie du sinusoïde. Rien de particulier n'est à signaler à ce stade, à propos de la forme et de la structure des cellules endothéliales ; non plus que sur les espaces de Disse, de largeur normale ; ils contiennent quelques faisceaux de fibres collagènes.

La lumière des sinusoïdes renferme des cellules sanguines normales.

IV - ESPACES PORTE

Les espaces Porte ne sont pas modifiés par l'intoxication. Il convient cependant de souligner que les coupes interessant un espace Porte dans son entier sont rares, suivant la technique que nous employons, car nous n'avons pas eu la possibilité de pratiquer de coupes sériées.

MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES AU QUINZIEME JOUR D'INTOXICATION

Sur le plan clinique l'expérimentation marque un tournant à partir du quinzième jour. C'est entre cette date et la fin de la sixième semaine qu'on observe le taux le plus élevé de mortalité chez les animaux intoxiqués.

Les modifications ultrastructurales que nous avons précédemment décrites s'accentuent en même temps qu'apparaissent de nouvelles lésions.

La taille des cellules demeure la même (15 microns de diamètre), mais sur les électro-micrographies à faible grossissement, on voit déjà l'énorme volume du noyau entouré par un chondriome dont les éléments tassés en couronne restent à l'écart de la membrane plasmatique, avec apparition d'une zone claire ectoplasmique dont nous verrons la signification morpho-fonctionnelle.

I - CYTOPLASME

Le volume occupé par le cytoplasme dans ces cellules de taille normale est réduit par augmentation de volume nucléaire (diamètre des noyaux 10-12 microns). Le rapport nucléo-cytoplasmique est donc très augmenté.

1° Ergastoplasme

L'ergastoplasme à cette période, a presque disparu. Il est réduit à quelques citernes aplaties, en connection étroite avec des mitochondries ; par places, les lamelles ergastoplasmiques ont perdu leur granulation ribosomique et les grains de Palade manquent par zones, ou sont très espacés.

Les ribosomes libres sont moins abondants qu'au stade précédent.

2° Appareil de Golgi

Il n'a pas subi d'altération. Par contre, il existe une prolifération massive du reticulum endoplasmique lisse dans la région périphérique du cytoplasme.

Ceci rend compte de la couronne claire qui entoure concentriquement le chondriome dont elle refoule en les tassant les éléments vers le noyau. Il s'agit d'une multitude de petites vésicules lisses arrondies ou allongées, isolées ou reliées entre elles pour former des figures polycycliques de tailles très variables et des tubules endoplasmiques.

Ce système reticulotubulaire est en continuité par endroits, avec l'ergastoplasme, soulignant la continuité déjà si souvent décrite du reticulum endoplasmique. Par ailleurs, surtout au pôle sanguin de la cellule, on voit d'indiscutables images de pinocytose.

Les vesicules lisses contiennent une substance à peine plus opaque au rayonnement que le hyaloplasme.

3° Vacuoles et Inclusions

- Certaines vesicules lisses beaucoup plus volumineuses, prennent un aspect franchement vacuolaire et ces vacuoles sont soit optiquement vides, soit remplies d'une substance peu dense aux electrons, parfois surchargées en pigments.

- Le glycogène a complètement disparu du cytoplasme, du moins dans sa forme granulaire.

4° Sont apparues des inclusions cytoplasmiques plus ou moins denses aux electrons, qui ont un contraste échelonné du gris clair au gris foncé, et sont bordées par un liseré dense. Leur structure homogène ou moirée permet d'en suggérer la nature lipidique.

Ces inclusions lipidiques sont

- libres dans le cytoplasme, rarement
- en règle entourée d'une membrane
- parfois groupées à plusieurs dans une même vésicule.

Il s'agit donc vraisemblablement d'éléments contenus dans les vésicules du reticulum endoplasmique, d'une taille variable. Comme on peut souvent l'observer, toutes les formes transitoires existent entre l'inclusion enfermée dans une vesicule avec une membrane simple, facile à distinguer, et l'inclusion libre dans le hyaloplasme, par ouverture de la membrane.

A un degré de plus, ces inclusions sont plus pâles, leurs contours s'estompent et il s'agit d'un mode de résorption par la cellule, de ces éléments graisseux.

Les inclusions pigmentaires sont libres dans le cytoplasme, ou contenues dans une vesicule.

Il s'agit de lipofuschine et d'amas de ferritine associé à des substances lipidiques. D'autres fois, ces pigments sont inclus dans des mitochondries en dégénerescence.

4° La présence de ces éléments bien individualisés à proximité du pôle biliaire, permet de parler de lysosomes (peribiliary dense bodies), bien que nous n'ayons pas pratiqué de réaction cytochimique des phosphatases acides pour les caractériser formellement.

5° Mitochondries

L'ensemble du chondriome présente une hypertrophie que nous avons citée plus haut.

Considérées isolément, les mitochondries présentent dès cette phase, des anomalies très importantes.

Elles sont toujours de même taille : environ 0,5 micron de diamètre pour les mitochondries sphériques. Les formes allongées sont beaucoup plus rares.

Surtout il importe de remarquer des anomalies portant sur les crêtes et la matrice mitochondriale.

Il est fréquent d'observer :

- un élargissement de l'espace intermembranaire rempli d'une substance plus foncée que la matrice ou que la chambre externe ;

- un effacement partiel ou total des membranes portant sur certaines crêtes et leur donnant un aspect flou ;

- une inhomogénéité matricielle avec des zones nuageuses qui représentent probablement l'aspect final de la destruction cristale ;

- des crêtes boursouflées ou rompues ;

- des ruptures de la membrane mitochondriale qui paraît, sur certains organites comme gommée par endroits. Pour des formes rondes bien dessinées sur tout leur contour, sauf au niveau de la rupture, il est impossible de mettre ces aspects sur le compte d'une coupe tangentielle.

Enfin, certaines mitochondries sont bourrées de graisses et de pigments ; on peut néanmoins affirmer la nature mitochondriale de ces structures sur la persistance d'une double membrane périphérique et de crêtes.

6° Membrane cellulaire

Elle présente des signes indiscutables d'hypertrophie.

La sinuosité des rapports cellulaires est accrue, et il existe entre cellules voisines des invaginations avec augmentation des surfaces de contact.

Cette hypertrophie membranaire est surtout nette aux pôles biliaires

et sanguins des cellules.

Les canalicules biliaires ont des micro-villosités plus nombreuses et très allongées qui encombrent la lumière du canalicule ; celle-ci par ailleurs paraît vide.

Au pôle sanguin les micro-villosités très développées emplissent la lumière des espaces de Disse.

Cette hypertrophie membranaire va de pair avec la multiplication des vésicules du reticulum lisse et apporte un argument en faveur de la théorie de la formation de ces vésicules à partir de fragments invaginés et détachés de la membrane plasmatique.

Il y aurait donc à ce stade des signes d'hyperactivité membranaire.

7° Nous insisterons en dernier sur la présence dans certaines cellules hépatiques de volumineuses vacuoles bordées d'une membrane simple.

- la taille de ces vacuoles de plusieurs microns de diamètre,
- leur contenu très hétérogène fait de gouttelettes lipidiques et de débris mal structurés dont certains paraissent appartenir au chondriome,
- l'analogie complète avec des vacuoles de même taille et de même contenu vues dans des cellules de Kupffer,

tout permet de suggérer :

1) une nécrose lytique portant sur certains hepatocytes ;

2) des phénomènes de phagocytose par des cellules hépatiques parenchymateuses, conjointement à la macrophagie habituelle des cellules de Kupffer.

II - NOYAU

Les noyaux très volumineux conservent le même rapport nucléolo-nucléaire élevé qu'à la fin du premier septenaire.

Toutefois, l'hypertrophie nucleolaire, sans être constante, atteint un nombre beaucoup plus élevé d'hépatocytes.

L'anomalie nucléaire majeure à ce stade, outre ces nucléoles monstrueux, est l'apparition de nombreuses inclusions nucléaires.

Ces inclusions paraissent bien être des invaginations du cytoplasme dans le noyau. Si la communication franche de l'inclusion avec le cytoplasme est exceptionnellement observée, il faut le mettre sur le compte de l'étroitesse de l'isthme rarement contenu dans le plan de coupe.

Toutefois, un certain nombre de faits plaident en faveur de cette conception.

1) Présence d'une double membrane autour de l'inclusion la séparant du nucleoplasme ;

2) Existence dans cette double membrane de pores. Il s'agit donc bien de la membrane nucléaire invaginée ;

3) Le contenu des inclusions reproduit, mais altérée, la structure d'éléments cytoplasmiques : reticulum endoplasmique, surtout vésicules de petite taille et des gouttelettes lipidiques particulièrement abondantes, parfois volumineuses.

Nous ne pouvons cependant pas assurer que ces inclusions intra-nucléaires sont toujours reliées au cytoplasme ; il faudrait pour ce faire, multiplier les coupes sériées sur les noyaux interessés.

Dans certains noyaux, la membrane qui entoure ces inclusions paraît floue et unique ; on ne reconnaît plus alors que des graisses et des pigments alors que les autres organites cytoplasmiques semblent résorbés.

La membrane nucléaire a un aspect normal. En particulier, il n'y a plus augmentation du nombre des pores. Tout se passe comme si les échanges nucleo-cytoplasmiques étaient moins importants que lors de la première semaine.

III - SINUSOIDE

Les cellules endothéliales sont les sièges de phénomènes de macrophagie et prennent l'aspect dominant de cellules de Kupffer.

On retrouve dans leur cytoplasme de volumineuses vacuoles pleines de débris cellulaires, analogues à celles décrites plus haut dans le cytoplasme de certains hépatocytes.

Les espaces de Disse sont comblés par les micro-villosités de la membrane de l'hépatocyte et la lumière étroite contient une substance peu homogène ; peut-être du plasma.

Il y a peu de fibres collagènes.

Sur de longues zones, le sinusoïde est directement bordé par les hépatocytes, sans interposition de prolongement du cytoplasme endothélial.

Dans la lumière du sinusoïde, on trouve en abondance des débris cellulaires, fragments de membranes de mitochondries altérées, micro-villosités gonflées et détachées d'aspect bulleux, voire même des fragments de cytoplasme entourés d'une membrane intacte ou rompue, ainsi que des gouttelettes graisseuses.

MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES AUX TRENTIEME ET QUARANTE-DEUXIEME JOURS D'INTOXICATION

Nous groupons ensemble l'étude de l'ultrastructure des foies de rats sacrifiés après 1 mois et après 6 semaines d'intoxication. Il ne nous paraît pas exister de différences sensibles entre les aspects constatés au terme de ces deux périodes.

La taille et la disposition relative des hépatocytes ne nous semblent pas modifiées. Bien que nous observions à cette période, avec une fréquence sans doute un peu supérieure à la normale, des canalicules biliaires limités par trois ou quatre hépatocytes.

i - CYTOPLASME

Il y a conservation du rapport nucléo-cytoplasmique observé au quinzième jour, et il s'établit un équilibre stable pendant cette phase évolutive.

1° Ergastoplasme

Il y a réapparition de l'ergastoplasme de façon variable, selon les cellules observées. Mais ces inégalités d'une cellule à l'autre ne sont pas un phénomène pathologique. De même que la présence d'un ergastoplasme un peu gonflé, en phase d'activité secrétoire, a une signification fonctionnelle trop peu spécifique pour qu'on puisse y attacher une valeur significative dans le présent travail.

La présence de grains ribosomiques libres persiste, et leur répartition disséminée dans tout le cytoplasme est préférentielle dans les zones riches en ergastoplasme.

La réapparition de l'ergastoplasme et la contiguité des plages riches en ribosomes libres, témoignent sans doute d'un aspect régénératif.

2° Appareil de Golgi

Le Golgi a une structure normale, la présence de granulations dans la

lumière des vesicules golgiennes, n'appelle aucun commentaire.

Les vésicules du reticulum endoplasmique non granuleux, sont encore nombreuses.

Toutefois, la zone périphérique du cytoplasme n'en est plus si abondamment fournie, elles sont moins tassées les unes contre les autres.

3° Vacuoles et Inclusions

C'est à ce stade de l'intoxication qu'on observe dans certaines cellules isolées et non dans des groupes cellulaires, une vacuolisation intense. Sur les micrographies, des vacuoles claires de 1 - 2 microns de diamètre envahissent le cytoplasme ; parfois elles confluent entre elles pour former des vacuoles de plus grande taille. Ces vacuoles sont optiquement vides ou contiennent des gouttelettes partiellement évidées, d'aspect noiré et de contours très découpés.

Il est probable que la deshydratation alcoolique a contribué à vider ces vacuoles de leur contenu et que la nature chimique des graisses cytoplasmiques leur confère une solubilité inégale, c'est-là la seule explication possible à ce phénomène.

Les différences entre cellules voisines dans un même lobule hépatique traduisent des stades fonctionnels ou lésionnels divers, et dans un temps donné, il est vraisemblable que chaque cellule hépatique fonctionne ou réagit pour son propre compte. Rappelons que la présence de vacuoles correspond à la dégénerescence hyaline du cytoplasme, observée au microscope photonique.

Les inclusions lipidiques non vacuolaires apparaissent comme des flaques osmiophiles noirées, confluentes parfois, de contour très irrégulier mais souligné par un liseré plus dense dont l'existence est lié probablement à des différences de tension au contact de la graisse du hyaloplasme.

Le Glycogène réapparaît dans les cellules par plages dites zones à glycogène. Parfaitement bien coloré par les sels de plomb, il forme des amas granulaires muriformes de 200 - 350 millimicrons de diamètre (glycogen units).

4° Mitochondries et microcorpuscules

Les mitochondries moins tassées et moins nombreuses qu'aux stades précédents sont étroitement intriquées avec les éléments de l'ergastoplasme.

Elles sont plus volumineuses : diamètre 0,5 - 1 micron, mais la densité optique de la matrice mitochondriale demeure aussi grande. Le contraste avec les membranes et les crêtes est faible. Ceci témoigne d'un gonflement mitochondrial

par accumulation de substance (Rouiller 1960).

Les microcorpuscules sont peu nombreux.

5° Membrane cytoplasmique

Les contours de la cellule marqués par la présence de la membrane cytoplasmique sont plus réguliers qu'au stade précédent.

Les canalicules biliaires sont plus souvent limités par trois ou quatre cellules, ce qui est peut-être la traduction ultrastructurale de l'apparition de néo-canalicules biliaires, mais il faut remarquer deux phénonènes :

1) L'augmentation du nombre et de la longueur des desmosomes. Rappelons qu'au voisinage des canalicules et des espaces de Disse, les membranes cytoplasmiques prennent un aspect bien spécial décrit sous le non de desmosomes. Les membranes des deux cellules voisines sont plus denses et plus proches ; il existe un manchon de substance très opaque d'où partent des fibrilles très fines * qui vont former un réseau tout autour du canalicule. On confère habituellement au desmosome le rôle de lien mécanique entre les cellules. Ces zones d'une grande solidité sont rarement rompues, quand, par défaut de fixation, les cellules paraissent écartées les unes des autres, avec un espace intercellulaire élargi.

2° Des altérations de structure des micro-villosités :

- microvillosités atrophiés, ou absence sur tout un côté du canalicule ;

- micro-villosité bulleuse reliée à la cellule voisine par un pédicule étroit ou même apparemment libre dans la lumière canaliculaire, et remplie d'une substance faiblement osmiophile.

- parfois présence de fibrilles plus opaques, allongées suivant l'axe de la micro-villosité, en continuité avec le réseau fibrillaire péri-canaliculaire.

Les altérations des micro-villosités n'ont de signification que du seul fait de leur fréquence.

II - NOYAU

Les noyaux sont encore le siège d'une hypertrophie nucleolaire et d'inclusions.

N.B. Ces fibrilles n'ont aucun rapport morphologique avec les fibres collagène qui ne sont jamais intracellulaires dans le foie, et ont une structure périodique et une taille caractéristique.

- Le nucléole encore volumineux a un nucléolonéma dense, mais dans certaines zones il y a une vacuolisation nucleolaire sous forme de plages arrondies plus claires.

- Le nucléoplasme est très hétérogène dans certains noyaux, avec des amas de granulations osmiophiles très fines. Cet aspect confère un caractère tumoral à ces noyaux.

- Les inclusions sont parfois de simples invaginations du cytoplasme séparées du reste du noyau par une double membrane.

- D'autres fois, des gouttelettes lipidiques disposées à même le nucléoplasme.

- Nous avons moins souvent observé des incisures dans les contours nucléaires.

- Enfin, certains noyaux ont plus simplement des contours plissés.

MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES AUX SOIXANTIEME ET QUATRE VINGTIEME JOURS D'INTOXICATION

Durant cette période de l'intoxication, aucun phénomène marquant sur le plan clinique n'est à signaler.

Nous serons plus brefs sur la description ultrastructurale, car peu de faits nouveaux sont notables malgré une analyse critique soigneuse.

Les rapports cytologiques sont les mêmes. Sur le plan tissulaire s'amorce le processus cirrhogène. Il n'y a pas de désorganisation lobulaire réelle, mais à la périphérie des lobules apparaissent des coulées fibroblastiques avec une prolifération collagène relativement peu importante. Les bandes de tissus scléreux sont étroites et la taille des nodules qu'elles circonscrivent assez grande.

Cet aspect anatomo-pathologique correspond à la modification macroscopique constatée au moment du sacrifice de l'animal. Le foie augmenté de volume de façon déjà nette, a une surface rosée pâle, finement granuleuse, grenue, avec un piqueté hémorragique. L'hypertrophie prédomine sur les lobes droits.

I - CYTOPLASME

Alors que le déséquilibre nucleo-cytoplasmique persiste, on constate au sein du cytoplasme, un apparent rétablissement des proportions respectives de l'ergastoplasme et du chondrione. L'appareil de Golgi amorce une hypertrophie que nous verrons massive lors des étapes ultérieures.

1° Ergastoplasme

L'ergastoplasme est régulièrement réparti dans le cytoplasme ; les citernes ergastoplasmiques sont aplaties ou un peu dilatées.

Les ribosomes libres sont peu nombreux.

2° Appareil de Golgi

L'appareil de Golgi a sa structure habituelle avec ses citernes formées par des membranes lisses, allongées parallèlement suivant une disposition en arc de cercle très ouvert. Les citernes les plus externes de cet arc de cercle, dilatées et morcellées, amorcent une disposition vésiculeuse. Certaines vésicules à la portion périphérique du Golgi contiennent des granules de secrétion.

- On est frappé par la présence dans une même cellule, de plusieurs structures golgiennes situées à distance les unes des autres, dans le cytoplasme, alors que dans le foie normal, sur les coupes ultra-fines, le Golgi est un organite très inconstant.

- C'est à proximité de ces appareil de Golgi que se situent les "glycogen units" et l'on sait le rôle que Porter et Bruni (1960) font jouer au reticulum endoplasmique dans la synthèse glycogénique. Par ailleurs, Karrer (1961) en étudiant l'hépatocyte de l'embryon de poulet insiste sur le rôle du Golgi dans la glycogénèse.

3° Mitochondries

Le chondriome est inégalement altéré à ce stade expérimental suivant les cellules, et dans une même cellule, voisinent des mitochondries normales aux contours réguliers avec des crêtes longues, bien dessinées, et des mitochondries pathologiques avec une matrice dense et inhomogène, des crêtes courtes ou morcelées, parfois partiellement gommées avec dilatation de l'espace intracristal.

Parfois, les crêtes affectent une forme tubulaire et limitent une portion de chambre interne emplie par une matrice plus claire.

- Les contours de ces mitochondries anormales sont dentelés, la chambre externe par zones plus larges, est très irrégulière, et difficile à déliniter.

Dans l'ensemble, les membranes sont épaissies.

- Il n'y a aucune modification des granules denses intra-mitochondriaux. Leur nombre, leur forme et leur diamètre sont les mêmes que dans le foie normal. Il faut néanmoins signaler que les méthodes d'inclusion en Epon mettent en évidence un plus grand nombre de granules que par inclusion en méthacrylate. La signification de ces structures est inconnue, et si certains auteurs y voient une zone de concentration ionique intra-mitochondriale, c'est un point de vue à vrai dire encore hypothétique.

II - NOYAU

Il n'exite aucune modification des noyaux des hépatocytes observés, par rapport aux constatations faites aux stades précédents :

- volumineux noyaux
- volumineux nucléoles, parfois noyaux plurinucléolés
- nucléoplasme finement granuleux
- plages de grains très denses
- pores nucléaires moyennement fréquents.

III - SINUSOIDE

Les sinusoïdes sont dilatés. Leurs lumières, outre les cellules sanguines habituelles, sont riches en débris cellulaires, ce qui témoigne de la persistance d'un processus de cytolyse.

- L'endothélium discontinu est formé par des cellules dont le cytoplasme est très allongé le long des parois. Mais il y a de nombreuses cellules de Kupffer : cellules endothéliales dont le cytoplasme étroit ne présente pas les prolongements caractéristiques, mais est surchargé de vacuoles de phagocytose.

- Dans les espaces de Disse, quelques pinceaux de fibres collagènes.

IV - ZONES PERILOBULAIRES

Certains des fragments étudiés concernent la zone de sclerose périlobulaire.

A ce niveau on peut observer :

- Des fibroblastes avec un noyau dense et allongé et un cytoplasme étroit, pauvre en organites ;

- Des bandes larges de Collagène* dont les fibres ont une disposition grossièrement parallèle.

N.B Signalons que la microscopie électronique a permis de confirmer formellement l'identité des fibres collagènes et des fibres de réticuline.

MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES A LA FIN DU QUATRIEME ET DU CINQUIEME MOIS D'INTOXICATION

Les animaux sacrifiés à la fin des quatrième et cinquième mois d'intoxication, étaient tous porteurs d'un foie volumineux , la surface boursouflée de gros nodules était jaune rosée. La consistance ferme et irrégulière permet de rapprocher cet aspect macroscopique de celui des cirrhoses humaines hypertrophiques.

Chez un de nos animaux d'expérience au cinquième mois, nous avons même constaté l'existence d'une ascite claire de moyenne abondance.

L'examen microscopique confirme cette analogie morphologique avec le processus de cirrhose, par la présence de bandes de sclérose annulaire et de néo-canalicules biliaires dans des noyaux peut-être régénératifs.

Cliniquement, il s'agissait d'animaux amaigris, au pelage terne, jaunâtre.

I - CYTOPLASME

Le cytoplasme est le siège de profonds bouleversements portant sur tous les organites mais surtout sur toutes les membranes granuleuses et lisses.

1° Ergastoplasme

L'ergastoplasme est abondant et très remanié. Les citernes ergastoplasmiques aplaties ont des profils tourmentés, sinueux. L'alignement des ribosomes sur la face externe des membranes est irrégulier et par zones, il y a un espacement ou même une absence de grains de Palade.

Nous n'avons pas observé de continuité nette entre les structures membraneuses lisses et l'ergastoplasme, à la différence de ce que signalent Emmelot et Benedetti par intoxication avec la dimithylnitrosamine (1960). Il y a cependant à propos de la disposition des éléments, quelques points à signaler :

- Enroulement spiralés de l'ergastoplasme autour des mitochondries, images de volutes ;

2 - Anneaux ergastoplasmiques complets ;

3 - Intrication de ces enroulements avec les figures complexes du reticulum lisse.

4 - Dilatations vésiculeuses des extrémités des citernes.

5 - Abondance par zones des ribosomes libres.

2° Reticulum endoplasmique lisse et Appareil de Golgi

Les images retrouvées à cette période de l'expérimentation sont multiformes et nous devons l'avouer d'une beauté harmonieuse dont nous ne savons pas percer le mystère. Nous allons tenter une description analytique de phénomènes qui échappent à la systématisation formelle.

L'Appareil de Golgi existe sous une forme reconnaissable bien que modifiée : c'est l'aspect d'un ensemble de membranes fines arrangées suivant des profils parallèles délimitant des citernes comme nous l'avons décrit précédemment, mais plus développé avec des ramifications vésiculeuses et quelques grains de secrétion. Dans quelques cas, ces Golgi forment des complexes fermés.

Des Aires réticulaires proches de la membrane cytoplasmique, sièges d'entrelacs de vésicules allongées et de tubules communiquant entre eux, et pleins d'une substance assez dense. Dans les espaces libres quelques unités glycogéniques (glycogen units) clairsemées.

Ce réseau paraît en communication avec les structures que nous allons décrire sour le nom de

Serpentins : autour d'un centre clair amorphe, s'enroulent en spirales des citernes bien limitées par des membranes très osmiophiles. Entre les membranes, les citernes plates contiennent un matériel assez dense. Ces figures se voient dans la zone du cytoplasme toute proche de l'espace de Disse et il y a de telles sinuosités que, en beaucoup de points, la membrane plasmatique, sans doute tourmentée et sectionnée tangentiellement à la coupe, n'est pas visible.

Dans une zone, nous avons observé l'ouverture de la cellule avec délitescence des organites dans la lumière du sinusoïde. Il s'agit de la fixation d'un processus d'échange très intense entre ces deux régions.

Plus à l'intérieur dans le cytoplasme, des figures à type d'empreintes digitales ne sont que l'expression morphologique majorée de cette structure en mouvement.

Nous ne croyons pas avoir le droit d'assigner une origine à ces formations, non plus qu'aux tourbillons membraneux.

Les tourbillons membraneux paraissent moins organisés que les figures serpentines. Les membranes sont tassées les unes contre les autres, concentriquement ; les contours sont circulaires ou onduleux. Il n'est pas possible de suivre chacune des membranes séparément pour savoir si toutes prennent part à la constitution de citernes. Au cas où il en serait ainsi, le contour de ces citernes serait contrasté.

Suivant certains rayons on compte 15 - 20 profils de membranes. Le centre est une aire hyaloplasmique arrondie occupée par des vésicules vides ou par des gouttelettes lipidiques.

Nous croyons pouvoir rattacher ces ensembles géométriques au réticulum endoplasmique atteint par une stimulation proliférative qu'on observe dans le foie dans d'autres circonstances : cirrhoses humaines ; foie pré-cirrhotique chez des éthyliques chroniques (observations personnelles), mais jamais avec une richesse si grande.

3° Les Inclusions

Elles sont d'une grande variété :

- Gouttelettes lipidiques (elles sont noires et denses, ou claires et partiellement évidées).
- Amas de lipopigments
- Glycogène particulaire
- Corps denses péribiliaires ou lysosomes
- nombreux corps denses (dense bodies) à distinguer des lysosomes d'une part, des microcorpuscules d'autre part ; ils ne présentent pas de membrane d'enveloppe et ont un aspect homogène.

4° Mitochondries

Les mitochondries ne sont pas significativement modifiées par rapport aux stades précédents.

5° Les microcorpuscules de Rouiller et Bernhard sont nombreux. Le "core" central a une structure feuilletée bien visible.

II - NOYAU

Rien de nouveau n'est à signaler à propos de la morphologie des appareils nucléaires. Quelques noyaux ont de grandes indentations, aspect retrouvé dans des cellules cancéreuses vraies.

III - SINUSOIDE

Il y a de façon inconstante prolifération endothéliale sous forme de fibroblastes, qui va de pair avec un comblement total de l'espace de Disse par des fibres collagène tassées les unes contre les autres.

Ceci entraîne probablement un ralentissement des échanges hépatocytoplasmatiques.

MODIFICATIONS ULTRASTRUCTURALES APRES UN AN D'INTOXICATION

Nota : Du fait de la haute mortalité parmi les animaux intoxiqués et de l'obligation devant laquelle nous nous trouvions de sacrifier des animaux périodiquement, nous n'avons examiné qu'un seul animal au terme de cette durée d'expérimentation. Il convient aussi de dire que pour des raisons pratiques, nous n'avons pu contrôler la dose totale ; ce contrôle exigeant une présence répétée quatre fois par semaine.

L'animal sacrifié après une année complète d'intoxication orale, présentait un foie énorme recouvrant tous les viscères abdominaux, épais et dur. Sa surface jaune chamois, bosselée et irrégulière, avait un aspect macroscopique nodulaire cirrhotique typique.

L'allure histologique et ultra-structurale était bouleversée.

Au microscope photonique, les nodules sont séparés par des bandes de sclérose plus larges qu'au stade précédent, les cellules plus allongées, nettement plus grandes que les hépatocytes jusque là observés.

L'ultrastructure elle aussi allait révèler des altérations identiques sur les lobes droits et gauches.

La taille des cellules atteint 50 - 60 microns de diamètre, celle des noyaux atteint 20 - 30 microns de diamètre. Ces dimensions sont à peu près le double de celles des cellules normales du parenchyme.

L'hypertrophie nucléaire rappelons-le, a été très précoce au cours de l'intoxication ; l'hypertrophie cytoplasmique très tardive diminue la valeur du rapport nucléo-cytoplasmique.

I - CYTOPLASME

Sur les micrographies à faible grossissement, le cytoplasme paraît extrêmement dense du fait de l'abondance inhabituelle des organites cytoplasmiques. En particulier, le chondriome et les inclusions glycogeniques occupent une surface étendue.

1° Ergastoplasme

L'ergastoplasme est bien développé dans certaines zones, dans sa forme lamellaire régulière. Les citernes allongées parallèlement, peu sinueuses sont aplaties. Par endroit cependant, par groupes, quelques citernes dilatées, granuleuses sur une portion de leur pourtour, ont une apparence vésiculeuse et un contenu faiblement osmiophile.

L'association étroite ergastoplasme-mitochondries en unités fonctionnelles, selon Bernhard et Rouiller, est un des aspects morphologiques fréquent dans ces grandes cellules.

2° Appareil de Golgi

Les appareils de Golgi paraissent en phase de secrétion hyperactive dans de nombreuses cellules. On ne constate pas la présence de ces formations membraneuses monstrueuses décrites aux stades précédents. Mais nous avons observé des Golgi dont toutes les citernes dilatées contenaient des granules de secrétion.

3° Inclusions lipidiques

Les inclusions lipidiques correspondant à toutes les formes décrites plus haut sont multiples, mais on est surtout frappé par l'étendue et la densité des zones à glycogène au sein desquelles les unités glycogéniques tassées les unes contre les autres refoulent les autres éléments cytoplasmiques. L'ensemble donne l'apparence de coulées bien contrastées, non pas limitées à un pôle de la cellule, mais occupant plusieurs portions distantes du cytoplasme.

Malgré cette abondance du glycogène, on en observa peu dans les noyaux, et jamais de plages de glycogène granulaire comme celles que nous avons observées dans les glycogénoses ou la maladie de Wilson, au contact direct du nucléoplasme.

4° Lysosomes

Des lysosomes très osmiophiles sans doute parce que riches en pigments et en ferritine, siègent au voisinage des canalicules biliaires.

5° Mitochondries et microcorpuscules

Dans ces grandes cellules, le chondriome est richement fourni, et nous devons dire que si par zones, les mitochondries sont altérées, dans leur majorité ces organites ont une structure normale. Leurs tailles, 0,5 - 1 micron pour les formes rondes ; 1 - 3 microns pour les formes allongées ; ces dernières ont réapparu dans une proportion non négligeable.

La densité matricielle persiste

La membrane mitochondriale est nette

Les crêtes sont assez nombreuses, longues et bien dessinées

Ce n'est que par zones, que l'on observe des ensembles de mitochondries altérées. On voit ainsi : des modifications de la chambre externe dilatée ou collabée suivant les arcs,- des effacements de certaines parties des crêtes,- une ouverture de l'espace intra-cristal,- la confluence de crêtes voisines. Il est parfois impossible de dire ce qui revient aux chambres externes et internes qui paraissent communiquer.

Les microcorpuscules très abondants sont partout mêlés aux mitochondries. De taille 0,4 - 0,85 micron, avec ou sans "core" central, entourés d'une membrane simple. Nous avons obsdrvé des formes de transition entre ces organites et les mitochondries les plus authentiques. Ceci apporte des éléments confirmatifs à l'hypothèse de Bernhard. Pour cet auteur, la formation de novo de mitochondries à partir de microcorpuscules serait un des modes de naissance mitochondriale. C'est dans ces cellules dont le chondriome est très actif que ces images peuvent se voir avec le plus de netteté.

6° Membrane plasmatique

La membrane cellulaire manifeste des signes d'hyperplasie et ceci revient à diminuer le déséquilibre surface/masse dans ces cellules géantes. Cette hyperplasie se traduit par :

- une multiplication des canalicules biliaires ;
- une augmentation de taille et de nombre des microvillosités aux deux pôles sanguin et biliaire ;
- La présence de microvillosités au contact de deux cellules voisines avec des imbrications cellulaires contournées, voire même une augmentation de largeur de l'espace intercellulaire, sans doute avec accroissement du volume des échanges entre les cellules et le milieu extra-cellulaire.

II - NOYAU

Les noyaux ont subi peu de changement : volume, aspects des nucléoles et des nucléoplasmes, contours et formes, présence d'inclusions intranucléaires : tout ceci est comparable à ce que nous avons décrit aux stades précédents. Néanmoins le rapport nucléo-cytoplasmique est plus proche de la normale, par accroissement du cytoplasme.

Avec une fréquence plus grande, on constate l'existence de noyaux pluri-nucléolés ; les nucléoles sont volumineux et surtout leur masse totale toujours très excessive.

Dans son ensemble, la morphologie de ces grandes cellules suggère un état fonctionnel très actif, et des échanges importants avec le milieu extra-cellulaire.

DISCUSSION GENERALE

Nous essaierons de faire içi une étude critique de notre expérimentation et des résultats obtenus.

Sans nous étendre, nous verrons d'abord les avantages et les inconvénients inhérents à la méthode appliquée au cas particulier de cette étude, c'est-à-dire la validité des résultats obtenus par la microscopie électronique.

Puis nous ferons un essai objectif pour comparer nos données sur l'animal vivant pendant l'intoxication et ce que les autres expérimentateurs ont observé.

Enfin, nous centrerons l'essentiel de cette discussion sur l'interprêtation des phénomènes ultrastructuraux à la lumière des connaissances de la biologie cellulaire, c'est-à-dire en essayant de comprendre et d'interprêter les modifications des grandes fonctions cellulaires induites par le toxique.

A cette occasion, nous serons amenés à formuler certaines questions qui sont loin d'avoir toutes trouvé une réponse.

AVANTAGES ET INCONVENIENTS PROPRES A LA METHODE UTILISEE

On peut dire, et c'est un fait bien admis, que l'étude des structures intimes des cellules a permis de mieux pénétrer la biologie cellulaire. La microscopie électronique a apporté à la physiopathologie une dimension nouvelle. Il n'est pas permis de dire que l'instrument aussi perfectionné soit-il, ouvre la porte à une connaissance générale des phénomènes. Non plus que la biochimie sur des homogénats tissulaires, n'autorise une extrapolation excessive. On n'est pas en droit de soutenir par la seule constatation des structures en place, que la morphologie est une clé universelle.

Toutefois, en confrontant ces deux méthodes, il est possible de savoir avec plus de détails où et comment telle réaction métabolique intervient, pourquoi l'enchaînement des actions enzymatiques est ou n'est pas possible du point de vue structural.

Le degré de précision et de finesse déjà atteint laisse espérer, dans l'étude cancérologique comme dans les autres domaines de la pathologie, que la distinction jusque là gênante entre les sciences morphologiques descriptives et la biochimie quantitative, s'effacera. Les hautes résolutions obtenues ces dernières années ont facilité l'abord des structures moléculaires.

Nous n'en sommes pas là dans notre travail, mais l'étape ultrastructurale au niveau des organites de la cellule est indispensable si on ne veut pas sauter à un stade où les résultats demeurent ininterprêtables.

Comme toujours, un fait de cette importance ne va pas sans inconvénient et le reproche essentiel que l'on peut faire à notre technique est d'apporter un luxe de détails sur un fragment tissulaire de très petit volume, non représentatif de l'ensemble d'un organe.

Comme pour la microscopie photonique, on pallie cet écueil en étudiant et en comparant les prélèvements faits sur des zones différentes en se référant chaque fois que possible à l'aspect histologique à faible grossissement.

Par contre, les méthodes de fixation et d'inclusion se sont révélées sans conteste supérieure aux meilleures techniques de la microscopie photonique. Le recul est actuellement suffisant, les différents systèmes de fixation qui se confirment les uns les autres, bien au point, pour qu'on puisse à coup sûr connaître et distinguer les artifices des lésions authentiques.

Un facteur négatif inhérent à notre protocole expérimental sera souligné : les prélèvements sont dans le temps assez espacés pour que nous ne puissions assurer avoir suivi le déroulement des phénomènes, et qu'une étape peut-être importante n'aura pas échappé à notre attention.

OBSERVATION DES ANIMAUX EN COURS D'INTOXICATION

Dans notre travail, nous avons utilisé des rats Wistar car il s'agit d'une souche commune à tous les laboratoires, bien connue, d'élevage facile et qui ne présente pas avec une fréquence anormale, de tumeur hépatique spontanée. L'élevage conjoint d'animaux témoins aurait pu être évité, toutefois c'est une précaution supplémentaire qui permit de diminuer des causes d'erreur inhérentes au milieu dans lequel ces animaux ont vécu.

Le régime standard approprié auquel les rats furent soumis est un régime équilibré.

La Thioacétamide (PROLABO) que nous avons administrée, est un corps simple et stable, et contrairement à ce que certains expérimentateurs avaient constaté, cette poudre se dissout aisément dans l'eau du robinet à condition de rester très loin de la saturation, ce qui fut le cas avec une solution au 1/3.000.

L'administration parentérale est sans doute indispensable si on fait une intoxication de courte durée, elle permet de mieux contrôler des doses standard de toxique. Dans le cas d'une intoxication chronique, il existe dans les doses totales absorbées des variations entre les individus, mais ces variations sont connues et peu importantes. Nous obtenons ainsi un étalement plus grand des doses ingérées, ce qui partiellement disperse les degrés d'intoxication et permet de mieux serrer la réalité des transformations observées. Enfin, l'ingestion du produit mêlé à l'eau de boisson multiplie les prises dans la journée sans inconvénient et donne à la chronicité un caractère plus vrai.

Par ailleurs, le comportement des animaux, le taux et la période de mortalité corroborent les résultats obtenus par les autres auteurs : Fitzugh et Nelson (1948), Lopez (1956), Gupta (1956), Ruettner et Rondez (1960) Georgii et Mehnert (1960).

ETUDE CRITIQUE DES RESULTATS OBTENUS

A priori, avant de passer au détail de la discussion, il importe de poser deux questions fondamentales.

Première Question - Avons-nous réalisé une cirrhose expérimentale ?

Nous pouvons répondre par l'affirmative à cette question, car les trois éléments indispensables pour affirmer la cirrhose sont réunis :

- Destruction du parenchyme
- Accroissement du stroma
- Régénération du parenchyme(Moon-Hartroft - 1957).

Deuxième Question - Avons-nous réalisé une cancérisation ?

Nous devons répondre par la négative avec réserve ; en effet, nous n'avons pas observé d'image histologique de cancer et les données cytologiques ne sont pas concordantes avec ce que l'on sait actuellement de la morphologie des cellules cancéreuses (W. Bernhard - 1958. Dmochowski - 1960).

Bien que l'essentiel des connaissances actuelles en microscopie électronique repose sur l'étude des cancers humains ou des tumeurs virales expérimentales, nous nous croyons autorisé à rappeler l'hypothèse de lésions cellulaires communes à toutes les cellules cancéreuses. Nous n'avons pas observé les signes caractéristiques dont l'ensemble seul permet d'évoquer la nature cancéreuse au point de vue cytologique.

Mais on sait que la cancérisation chimique est toujours multifocale. La constatation d'un ou plusieurs îlots de cellules cancéreuses ne changerait rien à l'interprétation des lésions cellulaires observées par nous. Nous devrons néanmoins, en microscopie photonique reprendre nos prélèvements et pratiquer l'examen des coupes en séries. Ce sera là un temps ultérieur de cette expérimentation que nous n'estimons pas achevée.

A - La Discussion va porter d'abord sur les premières phases de l'expérimentation : du septième jour à la fin de la sixième semaine.

Pendant cette période, nous verrons en regroupant les données, que s'effectue une évolution continue. Ceci correspond à l'observation clinique, puisque c'est la phase au cours de laquelle on constate le taux le plus élevé de mortalité.

Au delà de la sixième semaine les survivants paraissent mieux supporter le toxique et les lésions chroniques s'installent dans un contexte compatible avec la survie. Nous pourrions l'appeler période d'évolution subaïgue.

Nous avons vu, au niveau du cytoplasme l'effacement progressif de l'ergastoplasme du premier au quinzième jour, puis la réapparition progressive de structures ergastoplasmiques actives. Au tout début la décroissance ergastoplasmique s'accompagne d'une augmentation de nombre de ribosomes libres répartis dans tout le cytoplasme.

Nous pouvons interprêter ce phénomène comme l'association d'une dégranulation des membranes ergastoplasmiques à un accroissement global du nombre des grains de Palade.

Cette dégranulation a été observée dès les premiers jours d'administration de deux autres cancérigènes hépatiques : le 3'-ME-DAB (Porter et Bruni 1959) et la dimethylnitrosamine, DMNA (Emmelot et Benedetti 1960), mais dans les deux cas il y a raréfaction des ribosomes libres.

Nous constatons à l'inverse une augmentation numérique des ribosomes libres, soit sous forme de grains isolés, soit groupés en rosettes et en spirales. Cette augmentation contradictoire du nombre des grains de Palade est à rapprocher de la multiplication des pores de la membrane nucléaire à proximité desquels les ribosomes libres sont très abondants. Il y a probablement un accroissement du passage de l'acide ribonucléique (RNA) du noyau vers le cytoplasme. Cet accroissement ribosomique est sans doute ineffectif.

Par ailleurs, avec un certain retard dans le temps, nous avons observé :

- une prolifération du réticulum endoplasmique à partir de la périphérie du cytoplasme ;

- une disparition du glycogène cytoplasmique qui réapparaîtra en même temps que l'ergastoplasme.

Ce sont là des faits décrits dans les deux travaux cités plus haut par Porter et Bruni avec le 3'-ME-DAB et par Emmelot et Benedetti avec le DMNA, mais il faut signaler que ces auteurs provoquaient des intoxications aigües et brèves. Il semble donc que nous avons vu les mêmes phénomènes, mais étalés dans le temps. Ceci apporte un argument à la notion d'un facteur commun d'attaque de la cellule hépatique par trois cancérigènes différents.

Porter et Bruni supposent que le colorant est métabolisé dans le réticulum endoplasmique et que le dérivé métabolique lié à des protéines, siège dans la membrane des vésicules où il provoque une inhibition enzymatique de la glycogénèse, avec réduction du glycogène stoqué.

Emmelot et Benedetti apportent la preuve de la diminution d'incorporation des acides aminés dans la fraction microsome et constatent comme nous que la diminution du glycogène stoqué s'accompagne d'accumulations lipidiques. Cette transformation de glycogène en lipide est prouvée ; ces auteurs administrent à leurs animaux du glucose porteur d'un atome traceur de C^{14} qui est retrouvé dans les fractions lipidiques.

La confirmation histochimique de la déplétion glycogénique précoce avant la prolifération ductulaire est due à Spain et Griffin (1957). Ces auteurs utilisent le 3'-ME-DAB (colorant azoique), l'éthionine, le tetrachlorure de carbone, la thioacétamide, pour obtenir ce résultat. A un moindre degré, avec le 4-Dimethylaminoazobenzène, ils obtiennent une déplétion qui ne s'observe pas avec les colorants non cancérigènes.

Nous serons prudents quant à l'interprétation du mode et du lieu d'action de la TAC.

L'apport alimentaire de TAC contenant un atome traceur de S^{35} (Nygaard et Coll. 1954), permet de retrouver le lieu du métabolisme de ce corps. Il y a élévation de radioactivité au niveau de la thyroïde, de la moelle et de la surrénale, mais pas au niveau du foie. Ces auteurs supposent que le foie n'est pas le siège d'une concentration ou d'une accumulation de la TAC mais que c'est un métabolite de la thioacétamide qui agit sur l'hépatocyte.

Le rôle cancérigène hépatique d'un corps voisin, l'Acétamide ($CH_3CO\ NH_2$) a été étudié par Jackson et Dessau (1961). Peut-être dans un premier temps, la Thioacétamide perd-elle son atome de soufre, donnant un corps voisin de l'Acétamide. Il faut cependant signaler que l'Acétamide ne provoque pas de lésion histologiquement comparable à celles que nous avons observées.

Le chondriome subit des modifications : une diminution globale sans altération des organites à la première semaine, suivie par une hypertrophie alors qu'apparaissent des lésions mitochondriales que nous ne sommes pas en mesure d'interprêter d'un point de vue physiologique. Signalons néanmoins que Gallagher, Gupta et Coll. (1956) constatent une inhibition précoce du métabolisme respiratoire du foie.

Nous insisterons plus longuement sur les manifestations nucléaires : hypertrophie nucléaire et nucléolaire.

Les mêmes auteurs (Gallagher, Gupta et Coll.) par étude de l'incorporation du P_{32} observent une élévation de la synthèse du RNA et desphospholipides.

Kleinfeld (1957) et Koulish, Kleinfeld (1957) rapportent au quinzième jour :

- une augmentation du volume nucléaire (x 2,5) sans élévation parallèle de l'acide desoxyribonucléique (DNA)
- une augmentation de volume du nucléole (x 13) et une élévation parallèle du RNA.

Par contre, avec la même méthode photométrique après coloration à l'Azur B, ils trouvent une diminution du RNA cytoplasmique. Il est probable que l'accroissement numérique des ribosomes que nous voyons, correspond

- soit à une dispersion du RNA
- soit à un acide ribonucléique peu ou pas imprégné par ce colorant électif
- soit à l'existence de ribosomes pauvres en RNA.

Seule cette dernière hypothèse concorde avec leur conclusion, c'est-à-dire avec un blocage du transfert du RNA du nucléole vers le cytoplasme. Il y aurait alors production et passage accru de ribosomes inconplets biochimiquement. La preuve d'un tel mécanisme ne pourrait être apportée que par isolement des ribosomes par

ultracentrifugation différentielle en gradient de densité, puis dosage du RNA dans cette fraction. Ces techniques sont encore de pratique délicate. Jusqu'à preuve du contraire, nous croyons donc possible de réfuter le blocage total du transfert de RNA, et de situer le trouble au niveau de la formation de l'ergastoplasme.

Hypertrophie nucléolaire

Tout se passe comme si la synthèse du RNA augmentait à un degré suffisant pour s'accumuler dans le nucléole, passer, mais en partie seulement, dans le cytoplasme et y demeurer, pendant un temps du moins, inopérant.

L'hypertrophie nucléaire sans élévation du taux de DNA correspond probablement à ce processus de synthèse excessive de Ribonucléoprotéines (RNP) au niveau du nucléoplasme. Bien entendu ceci est purement hypothétique, mais concorde avec l'augmentation des protéines nucléaires constatée par Laird (1953) sans polyploïdie.

Nous remarquons que la structure finement granuleuse du nucléolonéma est comparable aux aspects normaux, mais que par endroits s'observent des condensations aux électrons, ce qui se voit dans des nucléoles de cellules transformées en culture de cellules à l'aide de virus cancérigènes. De plus ce nucléolonéma est irrégulier et on constate l'existence de zones claires de pars amorpha inhabituellement grandes. Nous ne savons pas interpréter ces phénomènes.

Les inclusions nucléaires sont extrêmement nombreuses, nous avons vu qu'il s'agit d'inclusions entourées par une double membrane perçée de pores, donc de membrane nucléaire.

Il s'agit d'invagination dans le noyau, du cytoplasme et ceci ne peut être expliqué que par la survenue de modification de la membrane cellulaire dont nous ignorons la nature. C'est là un fait retrouvé lors de plusieurs types d'aggression hépatique et bien décrit par Wilson et Leduc (1958).

Les altérations mitochondriales, nous l'avons vu, associent

- des modifications des membranes
- un défaut d'homogénéité de la matrice avec effacement des membranes cristales. L'apparition de dégénerescence myélinique des mitochondries observée par Jezequel (1959) dans le foie humain au cours d'un ictère viral et d'un

épithélioma du cholédoque, et par nous dans la maladie de Gaucher et dans la maladie de Waldenström, est un phénomène comparable de portée assez générale.

- accumulation de substances diverses : lipides et pigments dans la chambre interne. A propos de ces images, signalons que Daems et Van Rijssel(1961), observent de semblables aspects dans les hépatocytes de souris ; parmi les lysosomes très hétérogènes, certains ont, disent-ils, une origine mitochondriale.

On sait le rôle fondamental des mitochondries dans le déroulement des processus enzymatiques respiratoires et les modifications mesurées de la respiration cellulaire diminuée sous l'effet de la TAC. Reste à préciser si le chondriome est un des points d'attaque de la TAC ou si les lésions sont secondaires.

Nous croyons que l'existence de canalicules biliaires limités par plus de deux hépatocytes est l'image ultrastructurale du processus de prolifération néo-canaliculaire à partir des "cellules ovales" venues de l'espace Porte. Farber (1956), Wilson et Leduc (1958).

Les rares images d'inclusions volumineuses cytoplasmiques observées au quinzième jour, faites d'un amas de débris cellulaires entouré par une membrane simple, sont interprêtées comme un phénomène de phagocytose par l'hépatocyte, tant il y a d'analogie entre ces formations et celles observées dans les cellules de Kupffer. A cette période, la cytolyse est importante ; des fragments de cytoplasme entourés d'une membrane, tombent dans la lumière des sinusoïdes ; ils sont ensuite phagocytés par les cellules de Kupffer principalement, mais aussi accessoirement par les cellules du parenchyme.

B - La deuxième partie de cette discussion portera sur la critique des observations échelonnées durant l'intoxication du deuxième au cinquième mois.

Les grandes perturbations affectant les systèmes de synthèse protéiques et glucidiques, disparaissent ou persistent, mais atténuées ; le noyau ne redevient pas normal, non plus que son nucléole, au contraire même les modifications se confirment et s'accentuent ; la fréquence des inclusions lipidiques intra-nucléaires atteint son maximum ; mais l'évolution est dominée par l'apparition dans le

cytoplasme de structures membraneuses lisses ; leur morphologie et leur abondance est sans commune mesure avec ce que l'on a observé lors de la phase subaigüe de l'intoxication. Ces figures anormales sont contemporaines d'une hyperplasie Golgienne croissante.

Nous sommes en pleine phase cirrhogène. Au stade chronique de l'évolution il y a simultanément prolifération néocanaliculaire et production de collagène.

La présence de formations membraneuses décrites, dont la nature chimique est très vraisemblablement lipoprotéique, comme celle de toutes les membranes étudiées à ce jour, témoigne

- soit d'un processus passif : démixion cytoplasmique avec séparation des lipoprotéines sous une forme membraneuse,
- soit d'un phénomène actif de synthèse lipoprotéique.

C'est à cette deuxième hypothèse que nous donnons notre préférence en nous basant sur la structure relativement ordonnée des images observées et sur la présence d'un matériel apparemment secrété par ces membranes assez régulièrement espacées. Il ne s'agit pas de figures pseudo-myéliniques, mais de structures originales à rapprocher des images en tourbillon observées au microscope optique par Georgii et Mehnert (1961).

L'hypertrophie Golgienne

La présence de plusieurs appareils de Golgi dans une même cellule est inhabituelle dans le foie de rat adulte, alors qu'elle est de règle chez l'embryon dans la deuxième moitié du développement embryonnaire (Dadoune, communication personnelle). Du reste, les cellules observées dans cette étude ne présentent en dehors de ce point précis aucun des caractères de la cellule embryonnaire.

La multiplication des Golgi constatée par ailleurs dans d'autres types d'hépatome (Dalton et Edwards 1942), est mal expliquée. Il ne suffit pas de rappeler le rôle hypothétique du Golgi hépatique dans les phénomènes de secrétion et de concentration, pour justifier du point de vue fonctionnel les images constatées. Jusqu'à présent, un tel phénomène était mis sur le compte de la "régénération".

C - Discussion des résultats obtenus après une année d'intoxication

Nous serons plus brefs dans cette partie de la discussion, car nous avons vu que les organites cellulaires examinés au microscope électronique à cette phase, ne présentent que peu d'altérations spécifiques.

Les noyaux sont toujours volumineux et porteurs d'un gros nucléole.

Les cytoplasmes sont constitués par un ensemble structural très riche et équilibré.

Les images ultrastructurales de ces cellules volumineuses concernent un type cellulaire nouveau. Il est difficile de parler d'hépatocyte sinon en supposant un bouleversement profond des cellules du parenchyme initial. Nous ne pouvons pas dans notre étude, montrer la continuité cytogénétique de l'hépatocyte vers ces cellules géantes. Tout au plus pouvons-nous dire que ces cellules :

1 - Ne montrent aucun signe de souffrance puisqu'elles ont une morphologie révélatrice d'une activité métabolique variée : glycogénèse très efficace comme en témoignent les nombreux dépôts glycogéniques - synthèse protéique supportée par un ergastoplasme fourni - respiration suffisante puisque l'abondance du chondriome non altéré prédomine largement sur celle du chondriome défectueux.

2 - Le déséquilibre nucléo-cytoplasmique est encore assez important pour perturber la division cellulaire, mais on sait combien exceptionnelles sont les mitoses parmi les cellules du parenchyme hépatique normal.

Ces cellules très actives si elles jouent un rôle dans la régénération hépatique, interviennent plutôt en favorisant le développement d'un autre type cellulaire que par leur multiplication propre ; il s'agirait d'un rôle trophique hypothétique.

Nous ne pouvons pas non plus affirmer leur responsabilité dans le maintien des fonctions hépatiques nécessaires à la survie, encore que cette participation soit vraisemblable si l'on en juge sur les images d'anabolisme intra-cellulaire.

3 - Nous pouvons cependant souligner que, référence faite aux connaissances de l'ultrastructure des cellules cancéreuses, ces cellules n'ont pas de

caractère de malignité. Bien qu'il soit impossible de donner des critères cytologiques précis de la cancérisation, nous ferons remarquer la pauvreté habituelle du cytoplasme des cellules tumorales ; la dispersion du chondriome qui va de pair avec une diminution de la respiration cellulaire, parfois l'existence d'un ergastoplasme envahissant ; presque toujours, un déséquilibre marqué entre les différents éléments cytoplasmiques ; ceci est en contraste avec nos observations.

Wilson et Leduc (1958), grâce à un régime riche en méthionine et en bentonite, provoquent chez la souris la transformation des hépatocytes. Après une première période de nécrose, les cellules survivantes du parenchyme augmentent beaucoup de diamètre et prennent des dimensions analogues à celles de notre description. Les souris remises à un régime alimentaire normal, ces grandes cellules vont à leur tour se nécroser et ne pas intervenir dans la régénération. Ils suggèrent que la baisse du rapport surface/masse est un facteur de fragilité.

Nous ne pouvons poursuivre bien loin le parallèle entre notre travail et le leur, car nous ignorons le devenir de ces cellules, et nous sommes réduits à faire des propositions que nous pourrons étayer ou controuver des travaux ultérieurs.

- Ces cellules vont-elles survivre sans se diviser, aussi longtemps que l'animal supportera l'administration du toxique ?

- Ou au contraire, ces cellules fragiles sont-elles menaçées de nécrose, la mort de l'animal survenant au moment où leur masse totale devient insuffisante pour assurer les fonctions minimales ?

- Ces cellules vont-elles ultérieurement subir une deuxième transformation et donner naissance aux cellules tumorales, ou bien le cancer n'apparaît-il que dans des cellules moins différentes ?

- A moins que des facteurs encore inconnus déterminent une orientation vers l'une ou l'autre de ces directions considérées comme potentielles.

Autant de questions, autant de projets, d'hypothèses et de suggestions.

RESUME ET CONCLUSION

Nous avons intoxiqué des rats en mêlant à l'eau de boisson, une substance connue pour son activité cirrhogène et cancérigène sur le foie : la Thioacétamide.

A l'aide de la microscopie électronique, nous avons suivi les modifications d'ultrastructure des cellules parenchymateuses du foie, après administration échelonnée de une semaine à un an.

La période initiale ou d'intoxication subaigüe s'accompagne d'altérations cellulaires comparables à ce qui a été observé au cours d'expériences similaires faites à partir de deux autres corps cancérigènes : dégranulation ergastoplasmique, prolifération du réticulum lisse, disparition puis réapparition des dépôts de glycogène. Les changements survenus au niveau du noyau appartiennent en propre au toxique utilisé et lui confèrent une originalité. Les modifications portant sur le chondriome paraissent avoir un caractère plus général, en particulier les altérations des mitochondries sont observées dans divers types d'aggression hépatique.

La période d'intoxication chronique est caractérisée par une prolifération énorme des structures membraneuses lisses.

Après un an d'intoxication, les hépatocytes sont transformés ou remplacés par des grandes cellules en pleine activité dont nous avons discuté la nature et la structure.

Au terme de cette étude, nous sommes dans une situation de conjecture commune à tout travail de recherche et nous espérons que d'autres et nous-même seront en mesure de reprendre cette expérimentation et de pousser plus loin l'exploitation d'un système très riche d'informations concernant la nature des processus cirrhogène et cancérigène.

Dans un temps rapproché, nous nous proposons d'étudier les effets du toxique sur le rein du rat et de voir comment la Thioacétamide agît sur des cellules en culture, dans l'espoir de mieux comprendre l'action cytopathogène particulière à ce corps.

-o-o-o-o-o-o-o-

Vu, le Président de Thèse :

M. R. FAUVERT

Vu, le Doyen de la Faculté :

M. L. BINET

Vu et permis d'imprimer
le Recteur de l'Académie de Paris

J. ROCHE

B I B L I O G R A P H I E

1 - AMBROSE A.M. de EDS F. RATHER L.J. - Toxicity of TAC in rats
J.Ind. Hyg. Tox. 31, 158-61, 1949.

2 - ASFORD T.P. PORTER K.R. - Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes
J. Cell Biology 12, 198-202, 1962.

3 - ASHWORTH C.T. et SANDERS E. - Anatomic pathway of bile formation.
Am. Journ. Pathol. 37, 343-56, 1960.

4 - ASHWORTH C.T. SANDERS E. et ARNOLD M. - Hepatic lipids : fine structural changes in liver cells after high-fat, high-cholesterol and choline-deficient diets in rats.
Arch. of Pathol. 72.6., 625-37, 1961.

5 - ATERMAN K. - Some observations on the sinusoïdal cells of the liver.
Acta Anat. 32, 193, 1958.

6 - BASSI M. - Electron microscopy of rat liver after carbon tetrachloride poisoning.
Experimental Cell Research 20, 313-23, 1960.

7 - BASSI M., BERNELLI ZAZZERA A., CASSI E. - Electron microscopy of rat liver cells in hypoxia.
Journ. Pathol. Bacteriol. 79, 179-83, 1960.

8 - BERNHARD W. - Electron microscopy of tumor cells and tumor viruses : a review.
Cancer Research. 18, 491-509, 1958.

9 - BERNHARD W. BAUER A. GROPP A. HAGUENEAU F. OBERLING CH. - L'ultrastructure du nucléole de cellules normales et cancéreuses. - Exp. Cell Research. 9, 88-100, 1955.

10 - BERNHARD W. HAGUENEAU F. OBERLING CH. - L'ultrastructure du nucléole de quelques cellules animales révélée par la microscopie électronique.
Experientia. 8, 58-63, 1952.

11 - BERNHARD W. GAUTIER A. ROUILLER C. - La notion de microsomes et le problème de la basophilie cytoplasmique ; étude critique et expérimentale.
Arch. Anat. Microscop. et morphol. Exper. 43, 236-75, 1954.

12 - BERNHARD W. HAGUENEAU F. GAUTIER A. OBERLING CH. - La structure submicroscopique des éléments basophiles cytoplasmiques dans le foie, le pancréas et les glandes salivaires. - ZTSCHR. F. Zellforsch. 37, 281-300, 1952.

13 - BERNHARD W. ROUILLER C. - Close topographical relationship between mitochondries and ergastoplasm of liver cells in a definite phase of cellular activity.
J.B.B.C. 1956, 12 n° 4 suppl. p.73.

14 - BESSIS M. BRETON-GORIUS J. - Differents aspects du fer dans l'organisme
I - Ferritine et micelles ferrugineuses - II Différentes formes de l'hymosidérine.
J. Biochem. Biophys. Cytol. 6, 231-36, 37-40, 1959.

15 - BROWN D.B. DELOR J. GREIDER M. FRAJOLA WJ - The electron microscopy of human liver.
Gastro enterology 32, 103-118, 1957.

16 - BRUNI C. - Hyaline degeneration of rat liver cells studied with the electron microscopy. Lab. Invest. 9, 209-215, 1960.

17 - BURT R.C. KILLMEYER L.A. THOMPSON L.R. GRAUER R.C. - Electron microscopy evidence of mitochondrial change in small intestine associated with administration of 20-Methylcholanthrene.
Cancer Research, 21, 10, 1427-1430, 1961.

18 - CACHERA R. DARNIS R. - Examen du Foie humain au Microscope Electronique
Rev. Fr. Etudes Clin. Biol. 1, 296, 1956.

19 - CAESAR R. - Elektronenmikroskopischer nachweis von fett partikeln in Disseschen raum.
Zeitschrift für Zellforschung, 54, 793-802, 1961.

20 - CHAPMAN J.A. - Morphological and chemical studies of Collagen formation.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 639-51, 1961.

21 - COSSEL L. - Electronen mikroschopische untersuchungen zur frage des Disseschen raumes in der Leber. - Klin. Wochschr. 37, 743-53, 1959.

22 - DAEMS W.Th. Van RIJSSEL Th. G. - The fine structure of the peribiliary dense bodies in mouse liver tissue.
J. Ultrastruct. Research. 5, 263-90, 1961.

23 - DALTON A.J. EDWARDS J.E. - Cytology of hepatic tumors and proliferating bile duct epithelium in the rat induced with p - dinethylaminoazobenzène.
J. Nat. Canc. Inst., 3, 319-29, 1942.

24 - DALTON A.J. EDWARDS J.E. - Mitochondria and Golgi Apparatus of induced and spontaneous hepatomas in the mouse
J. Nat. Canc. Inst. 2, 565-575, 1942.

25 - DALTON A.J. ZEIGEL R.F. - A simplified method of staining thin sections of biological material with lead hydroxide for electron microscopy.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 7, 409, 1960.

26 - DANIELLI F.J. - Some theoretical aspects of nucleocytoplasmic relationships.
Exp. Cell Research. 6 supp, 252-67, 1959.

27 - DAVID H. - Zur morphologie des Leberzellmembran.
Ztschr Zellforsch. 55, 22-34, 1961.

28 - DAVID H. KETTLER L.H. - Degeneration von Lebermitochondrien nach ammonium intoxication.
Ztschr Zellforsch. 53, 857-86, 1961.

29 - DAVID H. - Die regeneration der Leber nach absoluten hunger.
Ztsch. Ges. inn. med., 16, 393-406, 1951.

30 - DAVIS J.M. - Structure of the walls of the bile canalicule in mammalian liver cells.
Nature, 188, 1123-24, 1960.

31 - DEANE H.W., PORTER K.R. - A comparative study of cytoplasmic basophilia and the population density of ribosomes in the secretary cells of mouse seminal vesicle.
Zeitsch Zellforsch. 52, 697-711, 1960.

32 - DMOCHOWSKI L. - Viruses and tumors in the light of electron microscopy studies : a review.
Cancer Research, 20, 977-1015; 1960.

33 - DRIESSENS et Coll. - l'Hépatome expérimental azoïque du rat examiné au microscope électronique.
C. R. Soc. Biol. 153, 788-90, 1959.

34 - DROCHMANS P. - Mise en évidence du glycogène dans la cellule hépatique par la microscopie électronique.
Journ. Biophys. Biochem. Cytol. 8, 553-58, 1960.

35 - EDLUND Y. HANZON V. - Demonstration of the close relationship between bile capillaries and sinusoïdal walls.
Acta Anat. 17, 105, 1953.

36 - ECKOLM R. EDLUND Y. - The mitochondria in human normal and cholestatic liver.
Proc. Intern. Conf. Electron microscopy, 273-75, 1958.

37 - ELIAS H. COHEN T. - Geometrical analysis of inclusions in rat liver cells as seen in electron micrograms.
Ztschr Zellforsch. 41, 407-20, 1955.

38 - EMMELOT P. BENEDETTI E.L. - Changes in the fine structure of rat liver cells brought about by dimethylnitrosamine.
Journ. Biophys. Biochem. Cytol. 7, 393-96, 1960.

39 - EMMELOT P. MIZRAHI I.J. NACCARETO R. BENEDETTI E.L. - Changes in function and structure of the endoplasmic reticulum of rat liver cells after administration of cysteine.
J. Cell Biology, 12, 177-80, 1962.

40 - ESSNER E. NOVIKOFF A.B. - Human hepatocellular pigments and lysosones.
J. Ultrast. Research. 3, 374-91, 1960.

41 - FARBER E. - Similarities in the sequence of early histological changes induced in the liver of the rat by ethionine, 2-acetylaminofluorene and 3'methyl 4 dimethylaminoazobenzène. - Cancer Research 16, 142-48, 1956.

42 - FARQUAR M.J. WELLINGS S.R. - Electron microscopy evidence suggesting secretory granules formation within the Golgi apparatus.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 3, 319-322, 1957.

43 - FAWCETT D.W. - Observations on the cytology and electron microscopy of hepatic cells. -
J. Nat. Cancer Inst. 15, 1475-1503, 1955.

44 - FAWCETT D.W., WILSON J.W. - A note on the occurence of virus-like particles in the spontaneous hepatomas of C$_3$H mice.
J. Nat. Canc. Inst. 15 suppl. 1505-11, 1955.

45 - FINCK H. - Epoxy resins in electron microscopy.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 7, 27, 1960.

46 - FITZHUGH O.G., NELSON A.A. - Liver tumors in rats fed with Thiourea or Thioacetamide - Science, 108, 626-28, 1948.

47 - FRIEDLAENDER BINGELLI M. - Abnormal intranuclear and cytoplasmic formations associated with a chemically induced, transplantable chicken sarcoma.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 5, 143-52, 1959.

48 - GALLAGHER C.H. GUPTA D.N. JUDAH J.D. REES K.R. - Biochemical changes in liver in acute Thioacetamide intoxication.
J. Path. and Bact. 72, 193-201, 1956.

49 - GAY H. - Nuclear control of the cell.
Scientific Amer. 202, 126-37, 1960.

50 - GEORGII A. MEHNERT H. - Uber leberveränderungen durch Thioacetamid bei gleichzeitiger belastung mit blutzucker senkenden substanzen der biguanidreihe.
Beit. Pathol. Anat. 124, 278-94, 1960.

51 - GRISHAM J.W. BAUSON B.B. HARTROFT W.S. - Nuclear and nucleolar alterations in hepatic parenchymal cells of the choline deficient rat.
AMA Arch. Pathol. 70, 64-72, 1960.

52 - GUEFT B. - Viral hepatitis under the Electron microscope.
Arch. Path. 72, 61-69 , 1961.

53 - GUPTA D.N. - Nodular cirrhosis and metastating tumors produced in the liver of rats prolonged feeding with Thioacetamide.
J. Path. Bact. 72, 415-26, 1956.

54 - GUPTA D.N. - Acute changes in the liver after administration of Thioacetamide.
J. Path. Bact. 72, 183, 1956.

55 - GUPTA D.N. - Production of cancer of the bile ducts with Thioacetamide.
Nature, 175, 257, 1955.

56 - HAGUENEAU F. - The ergastoplasm. Its history, ultrastructure and biochemistry. - Intern. Rev. Cytol. 7, 425-83, 1958.

57 - HAGUENEAU F. BERNHARD W. - Particularités structurales de la membrane nucléaire.
Bull. Cancer, 42, 537-44, 1955.

58 - HAMPTON J.C. - An electron microscope study of hepatic uptake and excretion of submicroscopic particles injected into the blood stream and into the bile duct.
Acta Anatom. 32, 262-91, 1958.

59 - HAMPTON J.C. - An electron microscope study of the source and distribution of ferritin in hepatic parenchymal cells of the newborn rabbit.
Blood, 15, 480-90, 1960.

60 - HAMPTON J.C. - Electron microscope study of extrahepatic biliary obturation in the mouse.
Lab. Invest. 10? 502-13, 1961.

61 - HANZON W. - Hypoxic vacuolisation of the liver cell.
Proc. Eur. Conf. Electron Microscopy Delft. T II, 903-7, 1960.

62 - HARTROFT W.S. - The trabecular anatomy of late stages of experimental dietary cirrhosis.
Anat. Rec. 119

63 - HARTROFT W.S. - Definition of cirrhosis.
Acta Unio Contra Cancrum. 13, 552-61, 1957.

64 - HOFFMAN H. GRIFF G.W. - An electron microscope study of mitochondria formation. - Exper. Cell Research. 15, 118-131, 1958.

65 - HOSHUIO M. - The deep invagination of the inner nuclear membrane into the nucleoplasm in the ascites hepatoma cells.
Exptl Cell Research. 24, 606-9, 1961.

66 - IZARD J. - Etude au microscope electronique de l'Hépatocyte humain normal et pathologique. - Thèse, 1960, Toulouse. Lion, Editeur.

67 - JACKSON B. DESSAU F.I. - Liver tumors in rats fed acetamide.
Lab. Investig. - 10, 909-23, 1961.

68 - JEZEQUEL A.M. - Dégénérescence hyélinique des mitochondries de foie humain dans un épithélioma du choledoque et un ictère viral. Etude au microscope électronique. - J. Ultrastruct. Research. 3(2), 210-15, 1959.

69 - JEZEQUEL A.M. - Les effets de l'intoxication aigüe au phosphore sur le foie de rats. Etude au microscope electronique. Ann. Anat. Pathol. 3 (4), 512-37, 1958.

70 - JEZEQUEL A.M. - Ce que la microscopie électronique apporte de nouveau à nos connaissances en cytologie hépatique normale.
Pathol. et Biol. 1962. (à paraître).

71 - JEZEQUEL A.M., ALBOT G., NEZELOF C. - Les cellules clarifiées dans l'hépatite parenchymateuse. Etude comparée en microscopie optique et électronique.
Presse Méd. 68, 567-70, 1960.

72 - KARNOVSKY M.J. - Simple methods for "taining with lead" at high pH in electron microscopy.
J. Biochem. Biophys. Cytol. 11 n°3, 729-32, 1961.

73 - KARRER H.E. - Electron microscope study of glycogen in chicken embryo liver.
J. Ultrastruct. Research. 4, 191-212, 1960.

74 - KARRER H.E. - Electron microscope observations on developing chick embryo liver. The Golgi complex and its possible role in the formation of glycogen.
J. Ultrastr. Research. 4, 149-165, 1960.

75 - KLEINFELD R.G. - Early changes in rat liver and kidney cells induced by Thioacetamide.
Cancer Research 17, 954-62, 1957.

76 - KLEINFELD R.G., GREIDER M.J., FRAJOLA W.J. - Electron microscopy of intranuclear inclusions found in human and rat liver parenchymatous cell.
J. Biophys. Biochem. Cytol. (suppl) 2, 435-38, 1956.

77 - KLEINFELD R.G.KOULISH S. - Cytological aspects of mouse and rat liver containing nuclear inclusions.
Anat. Rec. 128 n° 3, 433-40, 1957.

78 - KLEINFELD R.G., VON HAAM E. - The effect of Thioacetamide on rat liver regeneration. I - Cytological studies.
Cancer Research. 19, 769-78, 1959.

79 - KLEINFELD R.G., VON HAAM E. - Effedt of thioacetamide on rat liver regeneration. II - Nuclear RNA in mitosis.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 6 (3), 393-97, 1959.

80 - LAIRD A.K. - Nuclear changes induced in rat liver by Thioacetamide.
Arch. Biochem. Biophys. 46, 119-27, 1953.

81 - LANZAVECCHIA G., POLLI E., JEAN G., LE COULTRE A., PISANI E. - Structure of the human hepatic cell, observed by the electron microscope.
I - Normal human liver.
Arch. Ital. Anat. Embriol. 64, 404-29, 1959.

82 - LEDUC E.H. - Cell modulation in liver pathology.
J. Histochem. 7, 253-55, 1959.

83 - LEDUC E.H., WILSON J.W. - An electron microscope study of intranuclear inclusions in mouse liver and hepatoma.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 6, 427-, 1959.

84 - LEDUC E.H., WILSON J.W. - A histochemical study of intranuclear inclusions in mouse liver and hepatoma.
J. Histochem. and Cytochem. 7, 8, 1959.

85 - LEESON T.S., KALANT H. - Effects of in vivo decalcification on ultrastructure of adult rat liver.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 19, 95-104, 1961.

86 - LOPEZ M. - Proliferazioni iperplastiche e neoplastiche delle vie bilifere intrahepatiche da thioacetamide.
Experientia. 12, 185, 1956.

87 - LUFT J.H. - Improvements in epoxy resin embedding method.
J. Biophys. Biochem. Cytol. - 9, 409-414, 1961.

88 - LUSE S., DAVIES J., CLARK S.L. - Electron microscopy of nuclear inclusions.
Am J. Pathol. 35, 686, 1959.

89 - MAISIN J., LAMBERT J., DECKERS-PASSAU L., MALDAGUE P. - Cancers of the liver in rat caused by P-dimethyl aminoazobenzène and 2-acetylamino (Prophylaxis and pathogenesis).
Act. Unio Cont. Canc. 13, 808-21, 1957.

90 - DE MAN J.C. - Observations with the aid of the electron microscope on the mitochondrial structure of experimental liver tumors in the rat.
J. Nat. Cancer Inst. 24, 795-819, 1960.

91 - MAYER H.O., HAMPTON J.C., ROSARIO B. - A simple method for removing the resin from epoxy embedded tissue.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 909-10, 1961.

92 - MEADER R.D. - Electron and light microscopy of choline deficiency in the mouse ; with special reference to six-hour hepatic liposis.
The Anat. Record. 141, 1, 1-11, 1961.

93 - MENGHINI G. - Rapid puncture biopsy of the liver.
Bull. Soc. Med. Hop. Paris. 75, 798-803, 1959.

94 - NORTH R.S., POLLAK J.K. - An electron microscope study on the variation of nuclear mitochondrial proximity in developing chick liver.
J. Ultrastruct. Research. 5, 497-503, 1961.

95 - NOVIKOFF A.B. - Lysosomes and the physiology and pathology of cells.
Biol. Bull. 117, 385, 1959.

96 - NOVIKOFF A.B. - Approaches to the in vivo function of subcellular particles. Subcellular particles 1, 22, 1959. Hayashi T. Edit. New-Hork Ronald Press.

97 - NOVIKOFF A.B., ESSNER E. - The liver cell : some new approaches to its study.
Am. J. Med. 29, 102-31, 1960.

98 - NYGAARD O., EIDJARN L., NAKKEN K.F. - Studies on the metabolism of Thioacetamide S_{35} in the intact rat.
Cancer Research. 14, 625-28, 1954.

99 - OBERLING CH., ROUILLER CH. - Les effets de l'intoxication aigüe au tetrachlorure de carbone sur le foie du rat.
Ann. Anat.Path. 1, 401, 1956.

100 - PALADE G.E. - The endoplasmic reticulum. J. Biophys. Biochem.Cytol. (supplà 285, 1956.

101 - PALADE G.E. - Functionnal changes in structure of cell components. Subcellular Particles. Hayashi. Edit. New-York Ronald Press. 1959.

102 - PALADE G.E. PORTER K.R. - Studies on the endoplasmic reticulum - I, Its identification in cells in situ.
J. Exper. Med. 100, 641-56, 1954.

103 - PALADE G.E. SIEKIEWITZ P. - Liver microsomes : an integrated morphological and biochemical study.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, 171-200, 1956.

104 - PALAY S.L., KARLIN L.J. - An electron microscope study of the intestinal villus. II - The pathways of fat absorption.
J. Biochem. Biophys. Cytol. 5, 373-84, 1959.

105 - PARKS H.F. - The hepatic sinusoïdal endothélial cell and its histological relationship.
Proc.Stockholm Conf. Electron microscopy, 151-53, 1956.

106 - PARKS H.F. - A morphological study of phagocytosis by endothelial phagocytosis by endothelial phagocytes lining the hepatic sinusoïds of the mouse.
Anat. Rec. 1, 125, 1956.

107 - PARKS H.F.
Observations on early stages of phagocytosis of colloïdal particles by hepatic phagocytes of the mouse. -
In proceedings of Stockholm Conference on electron microscopy. 1956.

108 - PEACH R., WILLIAMS G., CHAPMAN J.A. - A light and electron optical study of regenerating tendon.
Am. J; Pathol. 38, 495-513, 1961.

109 - POLICARD A. COLLET A. PREGERMAIN S. - Etude au microscope electronique des "figures myéliniques" observées dans les réactions pulmonaires silicotiques expérimentales.
Compt. rendu Acad. Sc. 244, 979-84, 1957.

110 - POPPER H. ELIAS H. - Histogenesis of hepatic cirrhosis studied in 3 dimensional approach.
Am. J. Path. 31, 405, 1955.

111 - POPPER H. KENT G. STEIN R. - Ductular cell reaction in the liver in hepatic injury.
J. Mont Sinaï Hospit. 24, 551-56, 1957.

112 - PORTER K.R. - The ground substance, observations from electron microscopy.
In "the Cell" Brachet et Mirsky. - Vol. II 621-75, 1961.

113 - PORTER K.R. CARLO BRUNI - An electron microscope study of the early effects of 3'-Me-DAB on rat liver cells.
Cancer Research 19 (10) 99?-1009, 1959.

114 - RAPPAPORT A.M. BOROWY L.J. LOUGHEED. LOTTO W.N. - Subdivision of hexagonal liver lobules into structural and fonctional unit. Role in hepatic ... physiology and pathology.
Anat. Rec. 119, 11, 1954.

115 - RICHTER G.W. - A study of hemosiderosis with the aid of electron microscope.
J. Exptl Med. 106, 203-18, 1957.

116 - RICHTER G.W. - Intranuclear aggregates of ferritin in liver cells of mice treated with saccharated iron oxide. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 263-70, 1961.

117 - ROUILLER C. - Les canalicules biliaires : étude au microscope électronique.
Acta Anat. 26, 94-109, 1956.

118 - ROUILLER C. - Physiological and pathological changes in mitochondrial morphology.
Internat. Review of Cytol. 8, 227-82, 1960.

119 - ROUILLER et Coll. - La cellule hépatique revue à la lumière du microscope électronique.
Rev. Internat. Hepatol. (à paraître 1962).

120 - ROUILLER C. et BERNHARD W. - Microbodies and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, 355, 1956.

121 - ROULET F.C. - Anatomico-pathological considerations on primitive cancer of the liver.
Acta Unio Contr. Cancrum. 13, 623-27, 1957.

122 - RUETTNER J.R; RONDEZ R. - On the formal genesis of Thioacetamide cirrhosis in the rat.
Pathol. Microbiol. (Bâle) 23, 113-19, 1960.

123 - SCHAFFNER F., POPPER H. - Electron microscope studies of normal and proliferated bile ductules.
Am. J. Pathol. 38, 393-410, 1961.

124 - SCHWARZMANN V. - Les hépatites toxiques expérimentales.
Rev. Internat. Hépatol. 7, 387-429, 1957.

125 - SCHWARZMANN V., BERTHAUX N., JACOT C., JACOT A. - Modifications enzymatiques hépatiques chez le rat au cours de l'intoxication chronique par la Thioacétamide. Rev. Fse Etudes Cliniq. Biolog. Janvier 1962.

126 - SIRLIN J.L. - The nucleolus problem.
Nature, 186, 275-77, 1960.

127 - SIRLIN J.L. - The nucleolus of the cell nucleus.
Endeavour, 20, 146-53, 1961.

128 - SPAIN J.D., GRIFFIN A.C. - A histochemical study of glycogen alterations in the livers of rat following Azo dye administration.
Cancer Research, 17, 200-04, 1957.

129 - STARR TH.J. et Coll. - Electron microscopy and fluorescence microscopy of mouse hepatitis virus.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 104, 767-69, 1960.

130 - STEINER J.W. - Investigations of allergic liver injury.
Am. J. Pathol. 38, 411-36, 1961.

131 - STEINER J.W., CARRUTHERS J.S. - Studies on the fine structure of the terminal branches of the biliary tree. - I - The morphology of normal bile canaliculi, bile preductules (ducts of Hering) and bile ductules.
Am. J. Pathol. 38, 639-62, 1961.

132 - STEINER J.W., CARRHTHERS J.S. - Studies on the fine structure of the terminal branches of the biliary tree. II - Observations of pathologically altered bile canaliculi.
Am. J. Pathol. 39, 41-64, 1961.

133 - STEINER P.E. - Carcinoma of the liver in the United States.
Acta Unio Conc. Cancrum. 13, 628-45, 1957.

134 - STEINER P.E. - Precision in the classification of cirrhosis of the liver.
Am. J. Pathol. 37, 21-47, 1960.

135 - STEWART H.L., SNELL K.C. - The histopathology of experimental tumors of the liver of the rat. A critical review of the histopathogenesis.
Acta Unio Contra Cancrum. 13, 770-803, 1957.

136 - STEWART H.L., SNELL K.C. - The histopathology of experipental tumors of the liver of the rat. In "the physiopathology of Cancer" 2nd Edition. New-York (Paul B. Hoeber, Ed.) pp. 85-126, 1959.

137 - STICH H.F. - Changes in nucleoli related to alterations in cellular metabolism. In "Developmental Cytology" New-York (Rutnick Ed.) pp. 105-22, 1957.

138 - THERET C. - Les cancers hépatiques expérimentaux. I - Conditions générales d'obtention des cancérisations par le paradimethyl aminoazobenzène et le 2-acetoaminofluorène.
Rev. Internat. Hepatol. 11, 1-47, 1961.

139 - THERET C. - Les cancers hépatiques expérimentaux. II - Modifications sélectives apportées par l'adrénaline et l'acétylcholine sur l'action du DAB et du 2-AAF.
Rev. Internat. Hépatol. 11, 641-719, 1961.

140 - THOMAS O.L. - Electron Microscopy of the Golgi apparatus.
Nature, 185, 703-04, 1960.

141 - VINCENT W.S. - Structure and chemistry of nucleoli. - Internat. Review Cytol. 4, 269-98, 1955.

142 - WASSERMANN F. - The structure of the wall of the hepatic sinusoïdes in the electron microscope.
Ztsch. Zellforsch. 49, 13-32, 1958.

143 - WATSON M.L. - Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 4, 727, 1958.

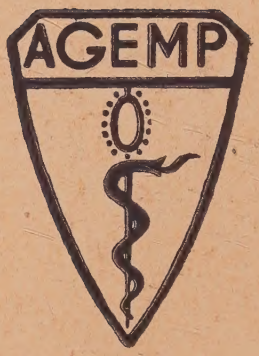
144 - WATSON M.L. - Further observations on the nucleolus envelope of the animal cell.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 6, 147, 1959.

145 - WILSON J.W., LEDUC E.H. - Rôle of cholangioles in restoration of the liver of the mouse after dietary injury.
J. Pathol. Bacteriol. 76, 441-49, 1958.

146 - WOOD R.L. - Some structural features of the bile canaliculus in calf liver.
Anat. Rec. 140, 207-15, 1961.

147 - WOOD R.L. - The fine structure of the junction between bile canalicules and bile ducts in mammalian liver.
Anat. Rec. 139, 287, 1961.

148 - YAMADA E. - The fine structure of the gall blader epithelium of the mouse.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 1, 445, 1955.



AGEMP
POLYCOPIE
8, rue Dante
PARIS-V•
Téléphone : ODÉon 58-90